

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Fakulta přírodovědecká
Katedra analytické chemie



DESORPČNÍ NANOELEKTROSPREJ V ANALÝZE POVRCHŮ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

| | |
|---------------------------------|-------------------------------------|
| Autor práce: | Iveta Lorencová |
| Studijní obor: | Analytická chemie |
| Vedoucí diplomové práce: | Mgr. Lucie Hartmanová, Ph.D. |

OLMOUC 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou v seznamu použité literatury.

Souhlasím s tím, že práce je prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....

Vlastnoruční podpis

Poděkování

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala Mgr. Lucii Hartmanové, Ph.D. za čas, který mi věnovala, odborné vedení, připomínky, cenné rady, pozitivní myšlení a zdárné dokončení diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala prof. RNDr. Karlu Lemrovi, Ph.D. za veškeré poskytnuté konzultace, rady a nápady k teoretické i praktické části práce. Dále děkuji RNDr. Haně Chmelíčkové a Mgr. Tomášovi Ingrovi za spolupráci při vytváření vzorků.

Obrovské poděkování za veškerou materiální i psychickou podporu patří mým rodičům, bez kterých bych nemohla dostudovat.

Děkuji spolužákům za krásné dva roky, přátelskou atmosféru a vzájemnou pomoc.

Nakonec bych ráda poděkovala přátelům, kteří mi připomínali, že je potřeba se občas bavit nejen studovat.

Souhrn

První část teoretické části diplomové práce popisuje vybrané analytické techniky používané k analýze povrchů, jejich základní principy, instrumentaci a aplikační možnosti. Druhá část je zaměřena na hmotnostně spektrometrické techniky s řadou příkladů, které dokumentují široké možnosti použití. Důraz je kladen na desorpční elektrosprej (DESI) a desorpční nanoelektrosprej (nanoDESI), který byl vyvinutý na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Popsán je vývoj této techniky, aplikace a podmínky ovlivňující proces desorpce/ionizace. Dále bylo porovnáno dosažené povrchové rozlišení u různých hmotnostně spektrometrických technik. Poslední část je věnována technice spincoatigu použité k přípravě vzorků.

Experimentální část je zaměřena na způsoby nanasení homogenní vrstvy rhodaminu B a aplikaci laseru pro vytvoření rysek v homogenní vrstvě. Dále na přípravu vzorků pro analýzu po smáčení povrchu, částečně překrytých inkoustů a zasoleného vzorku rhodaminu B.

Výsledky experimentů dokládají, že bylo dosaženo povrchového rozlišení desorpčního nanoelektrospreje (nanoDESI) pod $100\mu\text{m}$. Poukazují na pozitivní vliv smáčení na proces desorpce/ionizace. Potvrzují toleranci nanoDESI k zasoleným vzorkům a schopnost analyzovat přechod z jednoho inkoustu na druhý přes jejich částečný překryv kontinuálním posunem pomocí posuvného zařízení.

Summary

The first part of the theoretical part describes selected analytical techniques for surface analysis, their basic principles, instrumentation and possible application. The second part focuses on mass spectrometric techniques and gives many examples to illustrate the wide range of applications. Emphasis is placed on desorption electrospray (DESI) and desorption nanoelectrospray (nanoDESI), which was developed at the Department of Analytical Chemistry in the Faculty of Science of the Palacky University in Olomouc. The development of this technique is described as well as the applications, and the conditions affecting desorption/ionization processes. Furthermore, mass spectrometry techniques are compared in terms of the surface resolution. The last part is devoted to the spin-coating technique used for sample preparation.

The experimental part considered on the methods for homogeneous layer coating by Rhodamine B and the laser application for the creation of lines in this layer. Furthermore, the main topics are regarding the preparation of samples for analysis after wetting the surface, partially overlapping inks and salted rhodamine B sample.

My experimental results demonstrate the surface resolution options of desorption nanoelectrospray (nanoDESI). The same results indicate a positive wetting effect on the desorption/ionization process. They also confirm the tolerance of nanoDESI for salted samples and the ability to analyse transitions from one ink to the other through a partial overlap by continuous shift.

OBSAH

| | |
|---|-----------|
| 1. ÚVOD | 9 |
| 2. TEORETICKÁ ČÁST | 10 |
| 2.1. Metody používané k analýze povrchů..... | 10 |
| 2.1.1. Elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu (ESCA)..... | 10 |
| 2.1.2. Augerova elektronová spektroskopie (AES) | 11 |
| 2.1.3. Mikroskopie atomárních sil (AFM)..... | 12 |
| 2.1.4. Spektroskopie ztrát energie elektronů (EELS) | 13 |
| 2.1.5. Difrakce elektronů s nízkou energií (LEED)..... | 14 |
| 2.1.6. Rozptyl iontů s nízkou energií (LEIS)..... | 15 |
| 2.1.7. Skenovací tunelovací mikroskopie (STM) | 16 |
| 2.1.8. Fotoelektronová spektroskopie v ultrafialové oblasti (UPS)..... | 18 |
| 2.1.9. Energiově disperzní analýza (EDX) | 19 |
| 2.2. Hmotnostně spektrometrické metody používané k analýze povrchů..... | 20 |
| 2.2.1. Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (SIMS)..... | 21 |
| 2.2.2. Desorpce/ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI)..... | 23 |
| 2.2.3. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a přídavným zařízením pro laserovou ablaci (LA-ICP-MS)..... | 25 |
| 2.2.4. Desorpční elektrosprej (DESI) a desorpční nanoelektrosprej (nanoDESI) . | 27 |
| 2.3. Podmínky ovlivňující proces desorpce/ionizace v DESI..... | 34 |
| 2.3.1. Vliv sprejovací kapaliny | 34 |
| 2.3.2. Vliv povrchu | 35 |
| 2.3.3. Tolerance solí..... | 36 |
| 2.4. Povrchové rozlišení | 37 |
| 2.5. Spincoating | 38 |

| | |
|--|-----------|
| 3. EXPERIMENÁTLNÍ ČÁST | 40 |
| 3.1. Chemikálie a instrumentace | 40 |
| 3.2. Pracovní postup | 41 |
| 3.2.1. Smáčení..... | 41 |
| 3.2.2. Příprava homogenní vrstvy rhodaminu B | 41 |
| 3.2.3. Aplikace laseru – vytvoření rysek ve vrstvě rhodaminu B | 43 |
| 3.2.4. Příprava sklíčka s překrytými inkousty..... | 45 |
| 3.2.5. Příprava zasoleného vzorku | 45 |
| 3.2.6. nanoDESI..... | 46 |
| 3.3. Experimentální podmínky | 46 |
| 3.3.1. Spincoating | 46 |
| 3.3.2. Parametry laseru..... | 46 |
| 3.3.3. nanoDESI..... | 46 |
| 4. VÝSLEDKY A DISKUZE | 48 |
| 4.1. Vliv smáčení na intenzitu signálu | 48 |
| 4.2. Homogenní vrstva rhodaminu B | 49 |
| 4.2.1. Nanesení pipetou..... | 50 |
| 4.2.2. Nanesení fixírkou..... | 51 |
| 4.2.3. Spincoating | 52 |
| 4.2.4. Porovnání způsobů nanášení..... | 53 |
| 4.3. Rysky ve vrstvě rhodaminu B | 54 |
| 4.3.1. Vyhodnocení ablace laserem | 54 |
| 4.3.2. Analýza sklíček po ablaci laserem pomocí nanoDESI – rozlišení | 55 |
| 4.4. Překryté inkousty..... | 60 |
| 4.5. Zasolený vzorek | 61 |

| | |
|-------------------------|-----------|
| 5. ZÁVĚR | 63 |
| 6. CITACE..... | 64 |
| 7. ZKRATKY | 73 |
| 8. PŘÍLOHY..... | 75 |

1. ÚVOD

Analýza povrchů zahrnuje studium chemických a fyzikálních vlastností, distribuce látek a procesů probíhajících na povrchu. Důvodem ke studiu je odlišná struktura povrchu a tím odlišné chování a vlastnosti od vnitřní struktury a vlastností vzorku jako celku. Získané informace slouží ke zlepšení vzhledu, odolnosti, chemické reaktivity, přilnavosti a mnoha dalších vlastností. Analyzovány mohou být anorganické a organické materiály nebo atomy a molekuly anorganického, organického a biologického původu adsorbované na povrchu. Existují desítky technik, které lze použít k analýze povrchů a uplatnění nacházejí v různých oborech, např. mikroelektrotechnice, nanotechnologiích, biomedicině a biomateriálech, archeologii, životním prostředí, hutnictví, průmyslových výroбах a řadě dalších. Vhodná technika je volena na základě poskytnutých informací, hloubky průniku a povrchového rozlišení.

Cílem diplomové práce je prezentovat vybrané analytické techniky sloužící k analýze povrchů se zaměřením na hmotnostně spektrometrické techniky, konkrétně desorpční elektrosprej (DESI) a desorpční nanoelektrosprej (nanoDESI). Dále zhodnotit podmínky ovlivňující proces desorpce/ionizace a zjistit povrchové rozlišení při analýze povrchů desorpčním nanoelektrosprejem.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Metody používané k analýze povrchů

Chceme-li se dozvědět co nejvíce o vlastnostech povrchu a jeho reaktivitě, potřebujeme znát následující informace: o fyzikální topografii a chemickém složení, uspořádání atomů a molekul a o popisu vazeb mezi těmito atomy a molekulami. Žádná technika nemůže poskytnout všechny tyto informace. Pro úplné prozkoumání povrchových jevů bude vždy nutné použití více jak jedné techniky. V dnešní době je známo přes padesát technik vhodných k analýze povrchů¹, např. ESCA^{2,3} – Elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu, AES – Augerova elektronová spektroskopie^{4,5}, AFM – Mikroskopie atomárních sil^{6,7}, EELS – Spektroskopie ztrát energie elektronů^{8,9}, LEED – Difrakce elektronů s nízkou energií^{10,11}, LEIS – Rozptyl iontů s nízkou energií^{12,13}, STM – Skenovací tunelovací mikroskopie^{14,15}, UPS – Fotoelektronová spektroskopie v ultrafialové oblasti^{16,17}, EDX – Energiově disperzní analýza^{18,19} a mnoho dalších²⁰.

Většina těchto technik využívá k analýze záření tvořené elektrony, fotony, ionty nebo neutrony a zaznamenává vzniklé emitované záření, které může být taktéž tvořeno elektrony, fotony, ionty nebo neutrony. Během emise záření nesmí docházet k energetickým ztrátám například srážkami s atomy, protože takto ochuzené záření je pro analýzu nepoužitelné. Ve většině případů emitované záření vzniká v hloubce 1-4 nm, kde k těmto ztrátám nedochází.¹

2.1.1. Elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu (ESCA)

V literatuře se tato technika může uvádět pod zkratkou XPS – Rentgenová fotoelektronová spektroskopie. Vyvíjena byla během 50. a 60. let minulého století fyzikem a nositelem Nobelovy ceny za fyziku K. Siegbahnem. Princip metody je založen na fotoelektrickém jevu, který byl popsán ve 20. letech 20. století.^{1,21}

Přístroj se skládá ze zdroje rentgenového záření (RTG lampa s hořčíkovou nebo hliníkovou antikatódou), analyzátoru (nejčastěji hemisférický analyzátor), detektoru (multikanálový detektor), vyhodnocovacího zařízení (počítač s programem) a vakuového systému, který zajišťuje vhodné vakuum v komoře.¹

Výhodou této metody je její jednoduchost, schopnost poskytnout dostatek kvalitativních i kvantitativních informací a široké využití při studiu materiálů a povrchových jevů.¹

Tuto metodu ve své práci využil A. Jayna k analýze relativní přilnavosti ušlechtilých a neušlechtilých kovů ke keramice.²² Kovově keramické materiály se používají jako výplně zubů nebo z nich jsou vyráběny zubní náhrady, které jsou v dutině ústní namáhány žvýkáním, napětím, tlakem a také prostředím dutiny ústní. Z tohoto hlediska je důležité, aby se mezi kovem a keramikou vytvořila silná vazba, která by zajišťovala odolnost materiálu. Analýze byly podrobeny čtyři vzorky tvořené kovovou destičkou a na ní nanesenou tenkou vrstvou keramiky. Zkoumány byly dva ušlechtilé kovy: paladium, slitina paladia se stříbrem a dva neušlechtilé kovy: slitina chromu a niklu, slitina chromu a kobaltu. Destičky byly následně vystaveny tlaku a ohybu při konstantním napětí. Následkem toho došlo ke vzniku adhezivních prasklin keramiky. Opatřebované destičky byly analyzovány metodou ESCA přímo v místě praskliny. Z vyhodnocených dat vyplývá, že ušlechtilé kovy mají lepší přilnavost ke keramice než neušlechtilé. Při vzájemném porovnání výsledků mezi ušlechtilými kovy je patrné, že paladium má lepší přilnavost než slitina paladia se stříbrem. Důvodem je přítomnost mědi v paladiu, která podporuje vazbu mezi kovem a keramikou. Při porovnání neušlechtilých kovů zjistili, že lepší přilnavost má slitina nikl-chrom než slitina chrom-kobalt, protože nikl-chrom obsahuje stopová množství železa a molybdenu, což může být důvodem lepší přilnavosti. V závěru práce dodávají, že na základě dat získaných metodou ESCA je možné zvolit nejvhodnější materiál, ale je nutné vzít v úvahu i další fyzikální aspekty, např. koeficient tepelné roztažnosti, odolnost proti skluzu, tvrdost slitiny apod.²²

2.1.2. Augerova elektronová spektroskopie (AES)

Technika je založena na procesu, který již v roce 1923 popsal Pierre Auger, po němž je tato technika pojmenována. Při analýze je měřena kinetická energie emitovaných sekundárních (Augerových) elektronů. Z naměřených dat získáme informace o elementárním složení do hloubky 10 povrchových vrstev.^{1, 21}

Jednotlivé části přístroje jsou: iontové dělo (čistí povrch vzorku), elektronové dělo (zdroj elektronů), analyzátor (zrcadlový cylindrický analyzátor nebo hemisférický analyzátor), systém zajišťující vysoké vakuum a manometry.¹

Spektroskopie se používá převážně pro kvalitativní analýzu všech prvků kromě vodíku a helia. Nejdůležitější aplikací je hloubkové profilování, které umožňuje určit relativní změny složení s hloubkou. Další oblasti použití AES jsou např. materiálové vědy, nanotechnologie a nanočástice, mikroelektrotechnika, elektrochemie a hutnictví.¹

Augerova elektronová spektroskopie byla použita při analýze tenké vrstvy hexagonálního nitridu boru (h-BN), kterou provedli P. Sutter a E. Sutter.²³ Hexagonální nitrid boru se spolu s dalšími materiály (grafen, sloučeniny přechodných kovů obecného vzorce MX_2) řadí mezi tzv. 2D-materiály, které přilákaly pozornost díky svým elektronickým, optickým, chemickým a mechanickým vlastnostem. Zejména je h-BN studován pro své dielektrické vlastnosti, které jsou silně závislé na tloušťce jednotlivých tenkých vrstev tohoto materiálu, a právě zjištění tloušťky vrstev bylo cílem této práce. Vzorek h-BN byl vytvořen reaktivním magnetronovým naprašováním prostřednictvím střídavého nízkoteplotního ukládání a krystalizace při vysokých teplotách. Následným žháním při 900 °C vznikl částečně krystalický h-BN zachycený na substrátu, kterým bylo ruthenium. Z analýzy vyplývá, že s rostoucí tloušťkou h-BN vrstvy intenzita signálu vzrůstá a klesá intenzita signálu pro substrát. Dále bylo zjištěno, že AES poskytuje spolehlivé výsledky do hloubky šesti atomových vrstev. Závěrem Sutter dodává, že AES je technika zcela nezávislá na použitém substrátu, a proto vhodná pro kombinaci s jinými technikami (optická odrazivost), které vyžadují speciální substráty.²³

2.1.3. Mikroskopie atomárních sil (AFM)

Mikroskopie atomárních sil se řadí mezi tzv. SPM techniky – Scanning Probe Microscopy – Mikroskopie skenovací sondou. Vývoj těchto technik začal v 80. letech minulého století a největšímu rozvoji se těší v posledních dvaceti letech. Principem metody je měření meziatomových sil a vytváření trojrozměrného obrazu povrchu vzorku.¹

Hlavními součástmi přístroje jsou: ostrý hrot (snímá povrch vzorku) připevněný na nosníku (ohýbá se podle nerovností vzorku), analyzátor zaznamenávající ohyby nosníku (laserový paprsek nebo piezoelektrické zařízení), vyhodnocovací zařízení pro vytváření 2D a 3D obrazů (počítač s vhodným programem). Přístroj může pracovat v několika režimech. V kontaktním režimu, při kterém dochází k poškození jak vzorku, tak i hrotu. Řešením může

být bezkontaktní režim, který je v praxi těžko proveditelný. Kompromisem je režim poklepání využívající oscilační hrot.^{1, 24}

Výhodou této techniky je možnost analyzovat elektricky nevodivé a kapalné vzorky, čehož se využívá hlavně v biologii. AFM poskytuje mnoho informací o struktuře a vzájemných interakcích mezi atomy a molekulami.¹

S. Bellucci a kol. v ve své práci zjišťovali, jaké informace může technika mikroskopie atomárních sil poskytnout při studiu nanomateriálů.²⁵ K analýze byly použity uhlíkové nanotrubičky, které jsou díky svým vlastnostem (elektrickým, tepelným a mechanickým) a širokému uplatnění (letectví, biosenzory, katalýza, optika) hodně využívány v průmyslu. Uhlíkové nanotrubičky mohou být vyrobeny různými způsoby např. laserovou ablací, depozicí chemických par, disproportionací oxidu uhelnatého atd. Pro účely analýzy byly nanotrubičky připraveny mechanickým odstraněním z grafitové elektrody a následným ošetřením v ultrazvuku a zachycením na křemíkovém substrátu. Z měření vyplynulo, že technika mikroskopie atomárních sil může poskytnout informace o morfologii – hodnocení geometrie a vlastností nanostruktur, homogenitě – určení statistického rozdělení, rozpustnosti – určení schopnosti tvořit stabilní suspenze a čistotě – určení přítomnosti nečistot z výroby a jejich minimalizace. Touto technikou je možné provádět specifické studie uhlíkových nanotrubiček nebo obecně nanomateriálů a určit jejich hlavní mechanické a elektrické vlastnosti.²⁵

2.1.4. Spektroskopie ztrát energie elektronů (EELS)

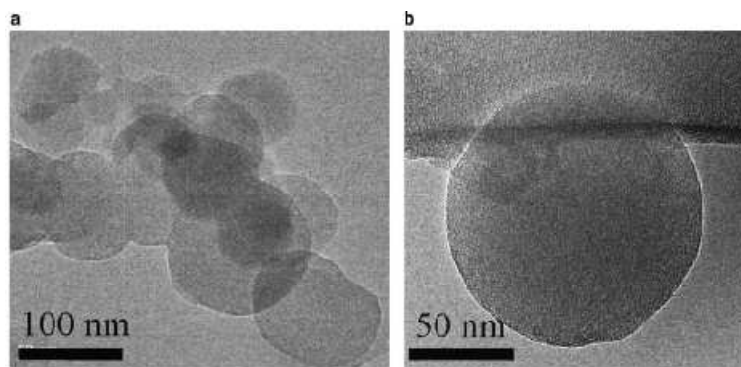
Vývoj EELS jako techniky analyzující povrchy můžeme datovat do 70. let minulého století. Řadí se mezi vibračně spektroskopické techniky, podobně jako infračervená spektroskopie, ale na rozdíl od ní nevyžaduje silný dipólový moment. Principem je analýza povrchových vibrací, ke kterým dochází při interakci elektronů o nízké energii (1-10 eV) s elektrickým polem na povrchu vzorku produkovaným adsorbovanými molekulami a atomy substrátu. Při interakci dochází k elastickému a neelastickému rozptylu elektronů.^{1, 26}

Přístroj má několik částí: zdroj elektronového paprsku, monochromátor a zaostřovací čočky, shromažďovací čočky, analyzátor (zrcadlový cylindrický nebo hemisférický analyzátor) a detektor. Hlavní části jsou umístěny v magnetickém poli a pracovní plochy

spektrometru jsou pokryty inertním materiálem. Monochromátorem, analyzátozem a vzorkem lze otáčet a nastavit tak vhodný úhel pro analýzu.¹

Technika EELS je vhodná pro analýzu téměř jakéhokoliv povrchu a téměř za jakýchkoliv podmínek. Uplatní se zejména při studiu reakcí probíhajících na povrchu a při identifikaci meziproductů vznikajících při těchto reakcích.¹

J. Zhu a kol. použili spektroskopii ztrát energie elektronů při analýze uhlíkatých aerosolů a k odvození jejich optických vlastností.²⁷ Uhlíkaté aerosoly absorbují světlo a jsou potenciálně druhou nejdůležitější emisí přispívající ke klimatickým změnám. Účinek aerosolů je přímý, kdy absorpcí fotonů způsobují místní oteplování a nepřímý, kdy ovlivňují dynamiku tvorby mraků. Neúplné informace o účincích uhlíkatých aerosolů brání přesné předpovědi globálního oteplování. Analýze bylo podrobena 11 grafitových částic o průměru v rozmezí 80-160 nm a 21 amorfních uhlíkových částic s průměrem v rozmezí 110-220 nm (obr. 1). Na základě naměřených hodnot indexů lomu vyplynulo, že částice podobné struktury a velikosti, mají podobné optické vlastnosti tzn. jedenáct grafitových částic má v podstatě stejné optické vlastnosti, podobně 21 amorfních uhlíkových částic má stejné optické vlastnosti, ale grafitové a amorfní částice se svými optickými vlastnostmi významně liší. EELS je důležitým nástrojem pro stanovení kolísání optických vlastností atmosférického uhlíku.²⁷



Obr. 1: Obrázky z elektronového mikroskopu: a) shluky grafitových částic, b) částice amorfního uhlíku (převzato z cit.²⁷)

2.1.5. Difrakce elektronů s nízkou energií (LEED)

První experimenty s difrakcí elektronů byly provedeny Davissonem a Germerem a současně Thomsonem a Reidem ve 20. letech minulého století. Vývoj techniky byl pozastaven až do roku 1960. V tomto roce Gramer se svými spolupracovníky vyvinuli

moderní zobrazovací systém – Difrakce elektronů s nízkou energií (Low energy electron diffraction – LEED). Při analýze elektronový paprsek dopadá kolmo na povrch vzorku a následně jsou elektrony odraženy. Rozeznáváme dva typy odražených elektronů: zaprvé elasticky rozptýlené elektrony, které jsou pro analýzu podstatné a detekují se, zadruhé neelasticky rozptýlené elektrony, které mohou tvořit až 99 % všech odražených elektronů a jsou systémem mřížek odstraněny.¹

Klasické uspořádání přístroje zahrnuje elektronové dělo, systém mřížek umístěný okolo elektronového děla (G1 – urychluje elasticky rozptýlené elektrony k detektoru, G2 a G3 – nesou záporný potenciál a odstraňují neelasticky rozptýlené elektrony), fluorescenční stínítko a detektor (kanálový). Dalším uspořádáním může být reversní nebo tzv. SPA-LEED (spot profile analysis – analýza bodových profilů).^{1,28}

Tato technika je vhodná pro získání informací o symetrii nebo rekonstrukci povrchu, může odhalit nedostatky na povrchu nebo určit zda jsou molekuly adsorbované na povrchu uspořádány pravidelně či náhodně.¹

T. E. Beechem a kol. se zabývali nedostatky, které vznikají při skládání 2D krystalů.²⁹ Konkrétně se zaměřili na kroucenou dvou vrstvu grafenu (TBG – twisted bilayer graphene) a analýzu rotačních poruch. Zkroucení silně ovlivňuje interakci mezi vrstvami a dochází tak k výrazným změnám elektrických, tepelných, optických a mechanických vlastností tohoto materiálu. Vrstvené 2D krystaly mají sklon k rotačním poruchám, protože slabé van der Waalsovy síly nedokážou udržet vrstvy v pevné struktuře, a proto dochází k posuvu a rotaci mezi jednotlivými vrstvami. Pro analýzu byly připraveny dva vzorky přenosem chemických par na podklad. První byl grafen na mědi tzv. krycí vrstva a druhý byl grafen na karbidu křemíku tzv. podkladová vrstva. Výsledky ukázaly, že k rotačním poruchám dochází jen lokálně a ne v celé vrstvě a rotace byla silnější u krycí vrstvy. Dále bylo prokázáno, že rotační porucha souvisí se zvrásněním povrchu. Celkovým závěrem práce je, že 2D krystaly jsou k nedostatkům robustní a jsou příslibem kvalitních hybridních látek.²⁹

2.1.6. Rozptyl iontů s nízkou energií (LEIS)

Technika je také známa pod druhým názvem – Spektroskopie rozptýlených iontů (Ion scattering spectroscopy – ISS). Principem metody je dopad iontů o energii několika stovek elektronvoltů až jednotek kiloelektronvoltů na povrch vzorku, kde dojde k rozptylu a odrazu

těchto iontů a následně se zaznamenává jejich energie. Výsledkem je spektrum poskytující informace o atomech a jejich geometrickém uspořádání nejen na povrchu, ale i do hloubky dvou až tří atomárních vrstev.^{1, 30}

Přístroj obsahuje iontový zdroj, hmotnostní separátor, terčový manipulátor, analyzátor (cylindrický zrcadlový, sférický nebo energiový) a detektor (kanálový elektronový násobič). Nedílnou součástí je vakuový systém, který zabraňuje kontaminaci vzorku a udržuje ho po delší dobu v nezměněném stavu. Alternativou pro měření energie iontů je použití průletového analyzátoru (time-of-flight – TOF).¹

Spektroskopie našla uplatnění při studiu povrchů katalyzátorů, kovů a jejich slitin, polovodičů, různých oxidů kovů a také adsorbátů. Omezení této techniky spočívá v absolutní kvantifikaci, kterou lze do určité míry překonat vhodnou kalibrací.^{1, 30}

Výkon elektrochemických zařízení tvořených článkem z tuhé elektrody a elektrolyzeru silně závisí na kinetice výměny kyslíku. Aby došlo ke zvýšení výkonu zařízení, je důležité pochopit vliv složení a struktury povrchu na rychlost elektrochemické reakce. J. Druce a kol. ve své práci studovali povrch tuhých elektrod a migraci prvků a nečistot mezi elektrodou a elektrolytem.³¹ Monokrystal $Zr_{0,905}Y_{0,095}O_{1,9525}$ (YSZ) byl použit jako elektrolyt a proužky $La_{0,6}Sr_{0,4}Co_{0,2}Fe_{0,8}O_{3-D}$ (LSCF) jako elektrody ve tvaru proužků umístěných na YSZ. Jeden proužek měl šířku 330 μm a druhý 110 μm . Vzorky byly následně očištěny kyslíkem, protože LEIS je velmi citlivá na nečistoty. Z analýzy vyplynulo, že vzorek s elektrodou o šířce 330 μm vykazoval migraci lanthanoidu z elektrody do elektrolytu. Vzorek s elektrodou o šířce 110 μm vykazoval významné znečištění povrchu draslíkem, sodíkem, křemíkem a vápníkem, zatímco povrch elektrolytu byl relativně čistý. Výsledky jasně prokazují migraci prvků mezi oběma fázemi. V závěru práce autoři dodávají, že není zcela jasné, jestli tento proces podporuje reakci nebo naopak.³¹

2.1.7. Skenovací tunelovací mikroskopie (STM)

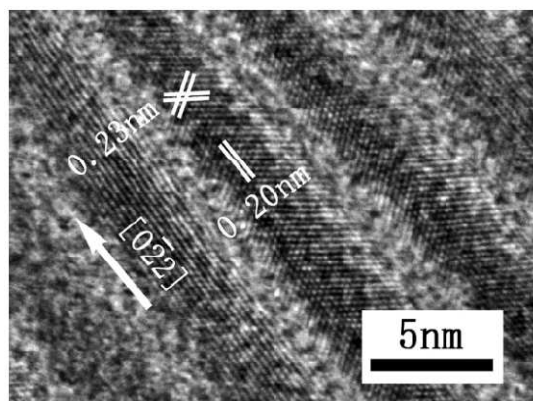
Skenovací tunelovací mikroskopie se stejně jako AFM řadí mezi tzv. SPM techniky, o kterých je zmínka v kapitole 2.1.3. Princip metody spočívá v měření vzdálenosti mezi hrotem přístroje a povrchem vzorku a využívá k tomu tzv. tunelový jev. V případě STM techniky musí elektron proniknout energetickou bariérou (vakuum) vzniklou mezi hrotem

a povrchem. Přístroj pracuje ve dvou módech: mód konstantní výšky nebo konstantního proudu.^{1,32}

Jednotlivé součásti přístroje jsou ostrý hrot, piezoelektrický krystal zajišťující jemné pohyby hrotu nebo vzorku ve směru os x, y a z, počítač pro řízení celého přístroje a vyhodnocení získaných informací.¹

Mikroskopie se používá k detekci změn povrchové struktury na atomární úrovni, poskytuje údaje o propojení atomů a molekul v površích, které jsou v přírodě unikátní. Dává poměrně přesné topografické informace pro vzorky s homogenním povrchem, u vzorků s nehomogenním povrchem je vyhodnocení složitější.¹

H. Yan a kol. zkoumali anomálii nulového vychýlení v jednorozměrných ultratenkých kovových nanovláčkách.³³ Tato nanovláčka se používají v elektronických zařízeních a obvodech a jejich elektronické vlastnosti závisí na vnitřních (nečistoty, vady, morfologie, délka a struktura povrchu) a vnějších vlivech (povaha kontaktů, sousední materiál v nano spojích). Anomálie nulového vychýlení patří mezi elektronické vlastnosti a byla zkoumána pomocí kryogenní STM techniky (prováděno při teplotě kapalného dusíku). Pro analýzu byla použita bimetalická Au/Ag nanovláčka (obr. 2) o průměru 2-3 nm a délce 1 μm . Nanovláčka byla syntetizována za použití oktadecylaminu (ODA) jako rozpouštědla a povrchově aktivní látky. Ze získaných dat byl jasně patrný výrazný pokles při nulovém vychýlení a několik oscilací v pozitivním a negativním vychýlení. Vznik anomálie je podle autorů článku způsoben vadami a deformacemi krystalové mřížky v nanovláčce. Teorie je podpořena experimentálními daty získanými při analýze.³³



Obr. 2: Obrázek z elektronového mikroskopu zachycující ultratenká Ag/Au bimetalická nanovláčka (převzato z cit.³³)

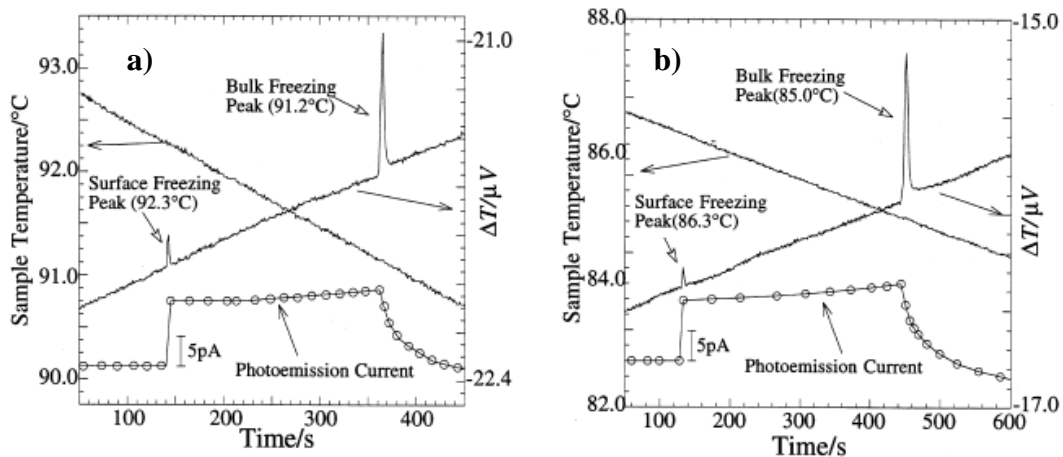
2.1.8. Fotoelektronová spektroskopie v ultrafialové oblasti (UPS)

Metoda je založena na fotoelektrickém jevu, kdy fotony o dostatečné energii dopadnou na povrch zkoumaného materiálu a způsobí excitaci elektronů a následně dojde k emisi elektronů. Zjišťuje se intenzita (počet) těchto elektronů a jejich kinetická energie.³⁴

Experimentální uspořádání zahrnuje zdroj záření (heliová výbojka nebo synchrotronové záření), držák vzorku, analyzátor energie elektronů (hemisférický analyzátor) a vakuový systém, který zabraňuje interakci elektronů se vzduchem a zachovává povrch vzorku čistý. Uspořádání se velmi podobá technice XPS a dalším technikám, které se dají vzájemně kombinovat.³⁴

Díky použitému zdroji záření se jedná o metodu velmi povrchově citlivou, protože energie záření je nedostatečná pro excitaci elektronů z hlubších vrstev vzorku. Metoda je vhodná pro studium hustoty stavů ve valenčním pásu, což je důležité z hlediska povrchových vlastností kovových slitin. Změnou hustoty stavů se může změnit reaktivita povrchu např. u katalyzátorů chemických reakcí.³⁴

Spektroskopie ve spojení s diferenčně termickou analýzou (DTA) využili Y. Yamamoto a kol. ke studiu n-alkanů a jejich unikátního fázového přechodu, který není zcela jasně objasněn.¹² Po nanesení tenké vrstvy uhlovodíku na podklad se na rozhraní n-alkan vzduch vytvoří tenká vrstvička. Při procesu tuhnutí nejprve tuhne tenká vrstvička na rozhraní a až poté tuhne zbytek n-alkanu. Opačně, při procesu tání nejdříve taje n-alkan pod vrstvičkou a při vyšší teplotě taje vrstvička na rozhraní. Použitými vzorky byly pentakontan ($n\text{-C}_{50}\text{H}_{102}$) a tetratetrakontan ($n\text{-C}_{44}\text{H}_{90}$). Uhlovodíky byly nanášeny v tenké vrstvě na měděnou destičku a odpařeny ve vakuu. Výstupem z UPS byla změna fotoemisního proudu v oblasti mezi teplotou tuhnutí tenké vrstvy a zbylého n-alkanu (obr. 3). Při dosažení teploty tuhnutí tenké vrstvy došlo ke zvýšení fotoemisního proudu, jehož hodnota se neměnila až do doby dosažení teploty tuhnutí zbytku n-alkanu, poté došlo k poklesu fotoemisního proudu téměř na původní hodnotu. Tento jev byl pozorován u obou vzorků. Z naměřených hodnot vyplynulo, že k tomuto fázovému přechodu dochází v monovrstvě n-alkanu. Zároveň autoři uvedli, že je potřeba provést další experimenty, protože není jasné, proč dochází ke zvýšení a následnému snížení fotoemisního proudu.³⁵



Obr. 3: Záznam změny fotoemisního proudu a záznam teploty tuhnutí: a) pentakontan, b) tetrakontan (převzato z cit.³⁵)

2.1.9. Energiově disperzní analýza (EDX)

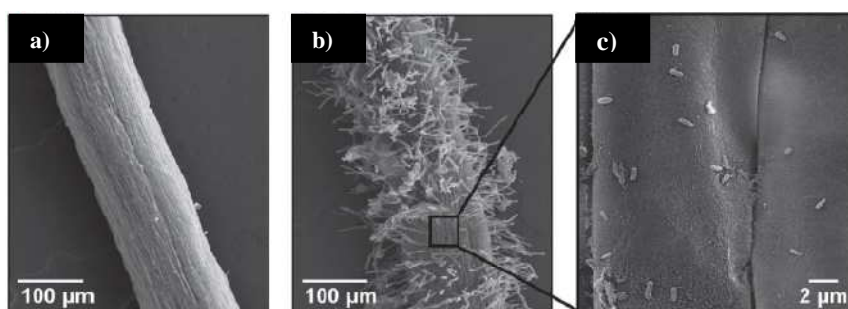
Tato technika je známa také pod názvem energiově disperzní spektroskopie (Energy dispersive spectroscopy – EDS). Detekuje se RTG záření vzniklé interakcí primárního elektronového paprsku s povrchem zkoumaného vzorku. Analýzu lze provádět dvěma způsoby: kvalitativně – detekují se prvky zkoumané oblasti, nebo kvantitativně – intenzita čar ve spektru vzorku se porovnává s intenzitou čar standardu. Po přepočtu může být výstupem i tabulka udávající procentuální zastoupení prvků přítomných ve vzorku nebo mapa zobrazující rozložení prvku v analyzované oblasti vzorku.^{36, 37}

Energiově disperzní analýza je součástí elektronových mikroskopů, je tvořen průtokovým proporcionálním počítačem nebo polovodičovým detektorem s lithiem dopovanou křemíkovou diodou.³⁶

Metoda dokáže velmi rychle a efektivně určit zastoupení prvků v předloženém vzorku. Uplatňuje se při analýze velmi malých vzorků a nerovností povrchů. Používá se v archeologii při analýze složení půdy, ve stomatologii k analýze zubní skloviny nebo k analýze povrchů a kontrole jejich nátěrů a povlaků.^{36, 37}

M. F. Guerrero-Molina a kol. využili tuto metodu při analýze listů a kořenů jahodníku před a po aplikaci bakterie *Azospirillum brasilense*.³⁸ Bakterie podporuje růst rostlin, zvyšuje odolnost vůči onemocněním a produkci plodů a na rozdíl od hnojiv je šetrná k životnímu prostředí a lidskému zdraví. K analýze bylo použito 20 rostlinek jahodníku pěstovaných

po dobu šedesáti dní v květináči. Následně byly rostliny přesazeny do nádob s roztokem obsahujícím optimální množství (100 %) a omezené množství (50 %) živin. Po 10 dnech byla polovina rostlin ze 100 % roztoku a polovina rostlin z 50 % roztoku ponořena do suspenze bakterie. Nakonec byly rostliny usušeny a jejich listy a kořeny byly zváženy a analyzovány. Sledovány byly morfologické změny povrchu (obr. 4), chemické složení a relativní distribuce makro a mikroprvků. Detekované prvky byly všudypřítomné a rovnoměrně distribuované jak v listech, tak v kořenovém systému a to jak očkovaných, tak neočkovaných rostlin. Z kvalitativního hlediska se elementární složení listů a kořenů liší. V listech byl obsažen uhlík, kyslík, dusík, sodík, fosfor, draslík, vápník a měď, kořeny navíc obsahovaly křemík a chlor. Rozdíl mezi očkovanými a neočkovanými rostlinami byl v obsahu fosforu, který se zvýšil o 34,33 % a v obsahu mědi, jejíž obsah se zmenšil o 35,16 %. V závěru práce autoři uvedli, že očkování bakterií *Azospirillum brasilense* je pro růst a výživu rostlin velmi přínosné.³⁸



Obr. 4: Obrázky z elektronového mikroskopu: a) neočkovaný kořen, b) očkovaný kořen – růst vlasových kořínků, c) detail obrázku b zobrazující bakterie připojené ke kořeni (převzato z cit.³⁸)

2.2. Hmotnostně spektrometrické metody používané k analýze povrchů

Techniky na bázi desorpce/ionizace využívané pro analýzu povrchů se uplatňují v mnoha oblastech, jako jsou geologie, životní prostředí, biologie, forenzní vědy i materiálové inženýrství a jejich počátky můžeme datovat do prvního desetiletí minulého století. Mezi nejvýznamnější techniky patří SIMS^{39,40} – hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů, která se vyvíjela odděleně od ostatních technik, mezi které například řadíme MALDI^{41,42} – desorpce/ionizace laserem za přítomnosti matrice a DESI^{43,44} – ionizace desorpčním elektrosprejem společně s nanoDESI^{45,46} – ionizace desorpčním nano-elektrosprejem.

Poslední dvě jmenované techniky vznikly v předchozích několika letech. LA-ICP-MS^{47,48} (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a přídavným zařízením pro laserovou ablací) je další technikou používanou k analýze povrchů.⁴⁹

Tyto techniky jsou vhodné pro hmotnostně spektrometrické zobrazování (z angl. mass spectrometry imaging, zkráceně MSI) biologických tkání a to jak rostlinného⁵⁰ tak hlavně živočišného původu⁵¹⁻⁵⁶. Jedná se o nástroj pro lokalizaci molekul různých látek a jejich metabolitů v tkáních. Tradičně používané techniky pro sledování látek v tkáních neposkytují dostatek informací o prostorovém rozložení analytu a nejsou dostatečně specifické, tzn. neodliší původní molekuly analytu od vzniklých metabolitů. Právě tyto informace poskytuje MSI, a proto v posledních letech vzrostl zájem o tuto techniku ve vědě a výzkumu. Velkou výhodou je, že není třeba provádět značení radionuklidy a je možné analyzovat látky nízkomolekulární i vysokomolekulární.⁵⁷

2.2.1. Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (SIMS)

Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů je technika vyvíjená od 70. let 20. století uplatnitelná při analýze (povrchové mapování a hloubkové profilování) mnoha rozmanitých materiálů používaných v řadě různých technologických odvětví. Na vzorek působí paprsek tvořený primárními částicemi, kterými mohou být atomy nebo ionty (Cs^+ , O^-). Z povrchu vzorku jsou emitovány sekundární částice, převážně neutrální a jen 1 % tvoří sekundární ionty, které směřují do hmotnostního spektrometru. Analýza může probíhat ve dvou režimech, za první staticky a za druhé dynamicky.^{1, 58, 59}

Součástí přístroje jsou: primární zdroj částic (bombardování elektrony, plazma, povrchová ionizace nebo ionizace polem), iontový optický systém a analyzátor (magnetický sektor, kvadrupól nebo průletový analyzátor).¹

Technika umožňuje identifikaci izotopů a můžeme ji řadit k nedestruktivním metodám. Vysoké vakuum, které je nezbytné pro analýzu, může způsobit zhoršení detekčních limitů u některých druhů vzorků. Analýzu může silně ovlivnit matrice vzorku.^{58, 59}

Konkrétním příkladem použití SIMS je práce F. A. Stevie a kol. zaměřená na analýzu oxidu zinečnatého a jeho příměsí jako materiálu použitelného v elektrotechnice.⁶⁰ Oxid zinečnatý je polovodič s širokým zakázaným pásem (3,3 eV) a vlastnostmi (snášlivost vysokého napětí a vysokých teplot, vysoký výkon, odolnost vůči vysokým energiím a nízký elektronický šum) vhodnými pro výrobu světelných diod. Sloučeniny na bázi oxidu

zinečnatého byly naneseny na substrát (ZnO a Al₂O₃) a analyzovány primárním svazkem iontů. Pro tento účel byly použity dva typy primárních svazků iontů: O²⁺ a Cs⁺. V práci se zároveň zabývali vlivem nabíjení povrchu na analýzu a sledování určitého prvku ve vzorku. K nabíjení povrchu docházelo spíše při použití O²⁺ paprsku než u Cs⁺ a spíše na ZnO substrátu než u substrátu Al₂O₃. Tomuto jevu se zabránilo potažením vzorku vrstvou zlata, ale naopak došlo ke zhoršení detekce některých prvků přítomných ve vzorku. Dále bylo zjištěno, že použitý substrát v kombinaci s různými vzorky mění drsnost povrchu tohoto vzorku a tím ovlivňuje rychlost rozprašování. Nejvhodnější příměsí pro ZnO polovodič typu N byl vyhodnocen hliník a pro ZnO polovodič typu P draslík. Metoda SIMS se ukázala jako vhodná pro určení prvků obsažených v oxidu zinečnatém a pro charakterizaci a rozvoj světelných diod z něj vyrobených.⁶⁰

Dalším příkladem je analýza jemných cigaretových papírků a obsažených aditiv technikou TOF-SIMS.⁶¹ Studie prováděná S. Starlingerovou a B. Eitzingerem byla rozdělena na dvě části. V první části šlo o pomoc výrobcí při optimalizaci rozložení pigmentu v cigaretovém papírku. Ve druhé části se zabývali vlivem různých parametrů na rozdělení pojiv v mezivrstvách papírku finálního produktu. Zkoumány byly papírky s gramáží 50 g/m², které se používají nejen při výrobě cigaret, ale také lékařských předpisů nebo slovníků. Rozdělení plniv má významný vliv na pórovitost, nasákavost, krytí, prášení, rozměrovou stálost a na distribuce lepidla v spoji mezi tabákem a filtrem. Rozdělení plniv bylo zjišťováno ve třech různých prouzcích papírků na základě analýzy minerálních látek resp. prvků (Mg, Si, Fe, Ti, Ca, Al) v nich obsažených. U distribuce lepidla byly hodnoceny tyto parametry: úroveň klížení, viskozita lepidla a teplota předehříváče. V tomto případě bylo připraveno 18 vzorků (tři druhy papírku, dvě různá lepidla a tři teploty), z nichž 8 bylo vhodných k analýze. Ze získaných dat vyplynulo, že rozdělení plniva nezávisí na přístroji vyrábějícím papírky, ale pouze na typu plniva. Na distribuci lepidla, přesněji řečeno na pozici a vrstvu lepidla mělo ze zkoumaných tří parametrů největší vliv klížení. Viskozita ovlivňovala pouze tloušťku a teplota předehříváče neměla téměř žádný vliv na distribuci lepidla. V závěru práce autoři dodali, že metoda TOF-SIMS je vhodná pro analýzu jemných papírků, protože má vysoké prostorové rozlišení a umožňuje separaci přídatných látek od analytu. Zároveň však dodávají, že analyzovaná plocha je velmi malá a získaná data neposkytují informace o vzorku jako celku.⁶¹

2.2.2. Desorpce/ionizace laserem za přítomnosti matrice (MALDI)

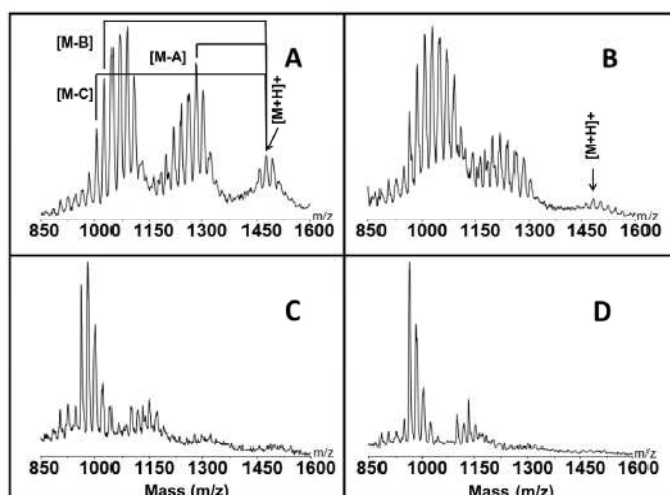
Historie MALDI (matrix assisted laser desorption/ionization) sahá do roku 1988, kdy byla vyvinuta a zdokumentována Hillenkampem a Karasem.⁶² Vzorek je po smísení s nadbytkem matrice nanesen na kovovou vodivou destičku s terčíky, která je následně ozářena laserem. Prvotně dochází k desorpci matrice, která způsobí desorpci analytu. Poté k ionizaci matrice, která ionizuje analyt.^{63, 64, 65}

Přístroj je složený z laseru vhodné vlnové délky (např. Nd:YAG laser při 335 nm) a hmotnostního analyzátoru, kterým je nejčastěji analyzátor doby letu (TOF).^{63, 65}

Desorpce/ionizace laserem je měkkou ionizační technikou použitelnou pro analýzy biologických vzorků, zejména makromolekul.⁶⁵ Dále k analýze proteinů, peptidů, sacharidů, polymerů a malých molekul.⁶³

Poskytuje dobře interpretovatelná spektra, je to citlivá a univerzální technika, která je tolerantní k řadě látek jako jsou např. soli, detergenty a anorganické pufrů.⁶³

O. Celikbicak a kol. techniku MALDI použili k identifikaci produktů enzymatické degradace barviv.⁶⁶ Odstraňování barviv z životního prostředí a sledování obsahu jejich degradačních produktů je důležité z hlediska jejich negativního účinku na mikroorganismy a vodní živočichy. Studie byla rozdělena do tří částí. V první se zabývali stabilizací enzymu lakázy pomocí polymeru roubovaného na částicích zeolitu. V druhé části využili stabilizovanou lakázu k enzymatickému štěpení barviv vypouštěných z průmyslu do životního prostředí. V poslední části zjišťovali, zda je technika MALDI vhodná k identifikaci produktů vzniklých enzymatickým štěpením. Experimenty se stabilizací lakázy byly úspěšné. Poté provedli stanovení analytu technikou MALDI před enzymatickým štěpením a následně po 30, 60 a 120 minutách působení lakázy. Ze získaných spekter bylo patrné (obr. 5), že s delší dobou působení enzymu se ztrácí molekulový ion patřící barvivu Reactiv Red 120 a zároveň se snižuje intenzita vznikajících produktů, které byly taktéž štěpeny lakázou. MALDI prokázala účinnost enzymatického štěpení, identifikace analytu a z něj vzniklých produktů. Enzym lakáza ve své stabilizované formě by mohl být využit k čištění odpadních vod z textilního průmyslu.⁶⁶



Obr. 5: Spektrum barviva Reactive Red 120: a) před enzymatickým štěpením, b) po 30 min, c) po 60 min a d) po 120 min štěpení (převzato z cit.⁶⁶)

Tato technika nachází uplatnění i v medicíně. S. M. Fröhlichová a kol. studovali adsorpci proteinu obsaženého v kloubní tekutině na materiál na bázi polymeru, ze kterého se vyrábí umělý kyčelní kloub.⁶⁷ Vyznačuje se vysokou mechanickou odolností proti opotřebení, biologickou kompatibilitou a schopností vlastního promazání, ale i tak dochází ke značnému opotřebení. Na povrch kloubní náhrady se po kontaktu s kloubní tekutinou adsorbují proteiny a tím dochází ke snížení tření a opotřebenosti. Cílem práce bylo zjistit, zda dvě provedené úpravy materiálu mohou ovlivnit množství adsorbovaných proteinů a tím zlepšit mechanickou odolnost kloubních náhrad. První variantou byl polymer ozářený gama zářením, druhou variantou byl polymer dopovaný vitamínem E. Upravené vzorky byly v kontaktu s kloubní tekutinou za podmínek simulujících lidské tělo. Analýza byla provedena přímo ze vzorků, na které byla aplikována matrice. Z naměřených dat vyplynulo, že na obou variantách došlo i po krátké inkubaci k vytvoření homogenní vrstvy proteinů. Dále bylo zjištěno, že se proteiny přednostně adsorbují na poškozené části polymerů a na vzorek dopovaný vitamínem E se adsorbují ve větší míře. Takto upravené kloubní náhrady by mohly být odolnější vůči poškození. V závěru práce autoři upozorňují, že veškeré testy probíhaly in vitro a adsorpce proteinů v lidském těle může být odlišná.⁶⁷

2.2.3. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a přídavným zařízením pro laserovou ablaci (LA-ICP-MS)

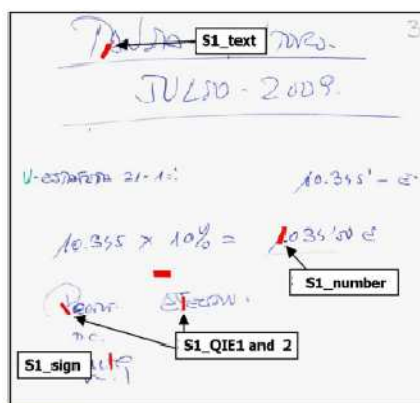
Technika ICP-MS se velmi rychle rozvíjela na začátku 80. let 20. století a nyní je standardní metodou pro multi-prvkovou a izotopovou analýzu. Spojení s laserovou ablací přišlo později a zájem o LA-ICP-MS vzrostl až v posledních několika letech.^{68, 69}

Laserem používaným pro ablaci může být Nd: YAG, který může být ve svislé nebo vodorovné poloze. Vzorek je umístěn v ablační komoře na platformě, jejíž pohyb je ve třech osách řízen počítačem. Komoře je po ablaci vypláchnuta inertním plynem (Ar, He), který dále směřuje do ICP. Nejčastějším analyzátozem je kvadrupól, ale používá se i sektorový analyzátor, iontová past nebo průletový analyzátor (TOF).^{68, 69}

Analyzovat lze nejrůznější vzorky z životního prostředí (kůra stromů, lastury, částičky vzduchu), geologie (izotopová analýza), archeologie, metalurgie, oblasti forenzních věd atd.⁶⁸

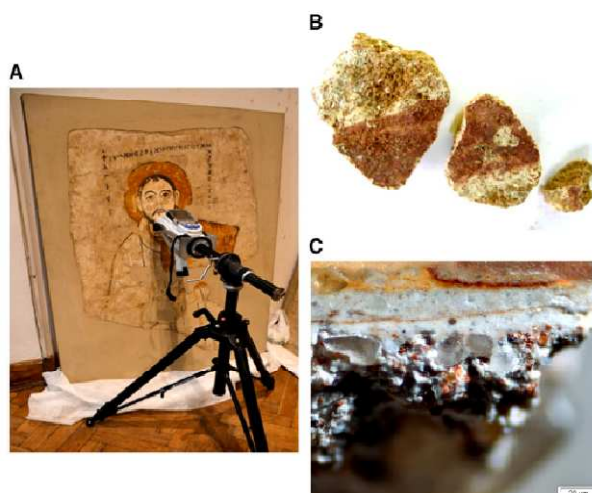
Dosažené detekční limity jsou nízké (nanogramy), ale závislé na analytických podmínkách a lineární dynamický rozsah je až 10 řádů. Výhodou je malá nebo téměř žádná úprava vzorku, málo spektrálních interferencí, analýza probíhá za atmosférického tlaku, možnost in situ analýz a přímá analýza roztoků.⁶⁹

F. Alamilla a kol. při své práci vyvinuli metodu pro analýzu inkoustů technikou LA-ICP-MS, která by byla použitelná pro odhalování padělaných dopisů, dokladů či smluv. V prvním kroku analyzovali 21 kuličkových per s modrým inkoustem. Každým perem nakreslili linku na běžný kancelářský papír a bez jakékoliv úpravy analyzovali každý vzorek pětkrát. Čistý list papíru sloužil jako slepý pokus k odečtení pozadí. Jako vnitřní standardy byly použity tři prvky – Sr, Mg a Ca. Analýzou bylo zjištěno, že inkousty stejného výrobce, ale různé šarže se dají odlišit na základě přítomnosti resp. nepřítomnosti některých prvků a na základě poměru mezi prvky a vnitřními standardy. Data byla statisticky zpracována a vyvinutý postup byl aplikován na reálný vzorek poskytnutý soudním úřadem. Cílem bylo porovnat výsledky získané novou metodou a soudním úřadem. Z každého listu byla odstraněna část s údajně padělanými slovy (obr. 6) a analyzována. Výsledky, které byly korigovány podle vnitřního standardu, odpovídaly závěrům soudního úřadu. Nově vyvinutá metoda prokázala schopnost odlišit různé inkousty a doplnit tak řady metod používaných k odhalování padělaných dokumentů.⁷⁰



Obr. 6: Detail zkoumaného dokumentu s vyznačenými analyzovanými oblastmi (převzato z cit.⁷⁰)

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a laserovou ablací byla použita pro elementární analýzu vzorků z archeologických vykopávek v Núbii (obr. 7).⁷¹ Oblast je bohatá na pozůstatky kostelů s malířskou výzdobou datovanou do období mezi 7. - 14. stoletím. Pro analýzu laserovou ablací byly z fragmentů maleb odděleny průřezy, které byly zakomponovány do akrylové pryskyřice a vyleštěny. Analýzou byla potvrzena přítomnost řady prvků, které objasnily technologii nástěnných maleb v Núbii. Přítomnost síry umožnila odlišit vrstvu sádry (tvořenou S a Ca) od vrstvy vápna (tvořenou jen Ca) nebo odlišit vápennou omítku (tvořenou Ca, Si a Al) od bahnitě omítky (tvořené Ca, Fe, Al atd.). Odlišit poslední dvě jmenované vrstvy bylo možné na základě nečistot přítomných v bahnitě omítce (Mn nebo Cu). Metoda umožnila určit elementární a molekulové složení povrchových a podpovrchových vrstev a také identifikovala suroviny použité k vytvoření nástěnných maleb.⁷¹

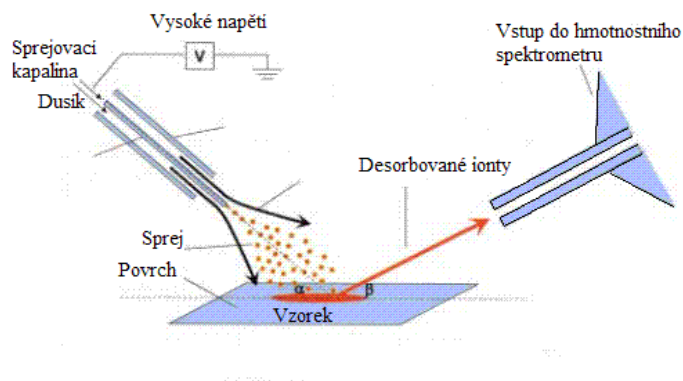


Obr. 7: a) analyzovaná malba, b) fragmenty, c) řez vybraného fragmentu (převzato z cit.⁷¹)

2.2.4. Desorpční elektrosprej (DESI) a desorpční nanoelektrosprej (nanoDESI)

Desorpční elektrosprej

Desorpční elektrosprej je poměrně novou technikou poprvé publikovanou v roce 2004.⁷² Patří do skupiny tzv. ambientních technik, které dokáží analyzovat vzorky téměř bez jakékoliv úpravy, za běžných podmínek bez nutnosti vakua a umožňují manipulaci se vzorkem během analýzy. Principem je sprejování vzorku umístěného na podkladu nabitými částicemi rozpouštědla, které po dopadu desorbují ionty z povrchu analytu. Tyto plynné ionty následně směřují do hmotnostního spektrometru. Výsledná hmotnostní spektra jsou podobná těm, která by byla pořízena analýzou ESI.⁷² Schematické uspořádání je uvedeno na obr. 8.



Obr. 8: Schéma iontového zdroje DESI (převzato z cit.⁷²)

DESI lze charakterizovat v několika bodech⁷³:

- Měkká ionizační technika – dochází jen k malé fragmentaci molekul analytu, což usnadňuje identifikaci sloučenin ve směsích
- Ionizace v pozitivním i negativním módu – umožňuje analyzovat látky jakékoliv polarity
- Vysoká citlivost – detekční limity pro čisté látky jsou v řádu nanogramu a méně
- Vysoká tolerance vůči matici a solím – minimalizuje se přečištění biologických vzorků
- Nízké nároky na podklad vzorku – téměř žádné požadavky, ale je známo, že zdrsňené povrchy fungují velmi dobře

- Univerzální použitelnost – možnost analyzovat nejrůznější látky
- Kvantitativní stanovení – využívá vnitřních standardů podobně jako v ESI, u některých vzorků však nelze použít – semikvantitativní stanovení

Touto technikou mohou být analyzovány pevné vzorky včetně komplexních biologických materiálů, kapalně vzorky, zmrazené roztoky a adsorbované plyny.⁷⁴ Od nepolárních malých molekul až po polární sloučeniny.⁷² Uplatní se v oblasti životního prostředí (analýza rostlinného materiálu⁷⁴), klinické diagnostiky (léčiva⁷⁴, steroidy a alkaloidy⁷²), forenzních věd (analýza drog⁷⁴, zaschlé krve⁷²), analýzy potravin (sacharidy⁷⁴), veřejné bezpečnosti (výbušniny, chemické bojové a biologické patogenní látky^{72,74}) a dalších.

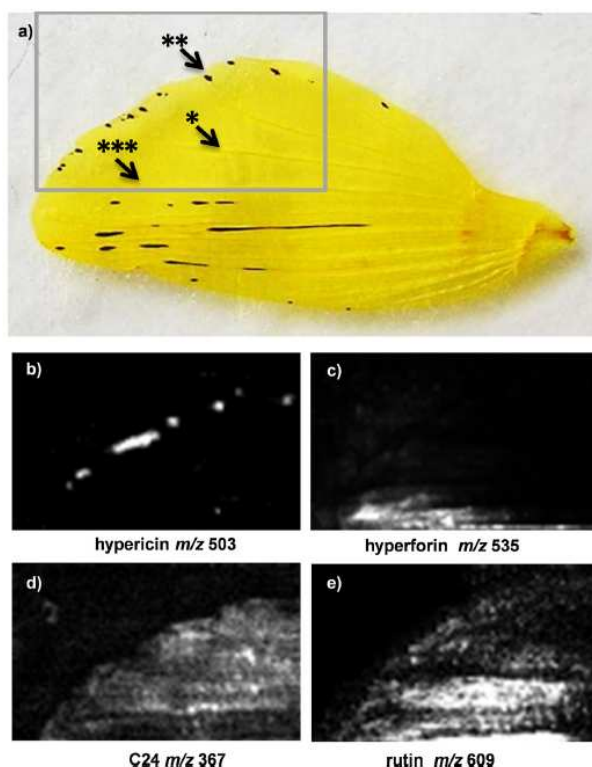
Technika DESI byla použita pro přímou analýzu chlorprofamu ze slupky brambor.⁷⁵ Chlorprofam se používá jako herbicid a látka zabraňující klíčení po sklizni. Maximální povolená koncentrace je 30 ppm, jeho metabolity mají cytotoxické a hepatotoxické účinky na buňky, a proto je tato látka sledována v životním prostředí. Vzorky byly připraveny dvěma způsoby. Roztok chlorprofamu o koncentraci 1 µg/ml byl nastříkán na slupku brambor. Pro napodobení zemědělských podmínek byly brambory třepány v kontejneru společně s práškem Neo Stop 5 a poté byly uskladněny po dobu 6 dnů. Po analýze obou vzorků byla porovnávána spektra kvůli identifikaci potenciálních degradačních produktů. Fragmentace chlorprofamu byla ověřena analýzou čisté látky na ESI. Získaná spektra si byla velmi podobná. Ion $m/z = 172$ odpovídá volné kyselině a byl nalezen u obou vzorků, mohlo by se jednat o degradační produkt. Ion $m/z = 251$ byl nalezen u skladovaných brambor a též by se mohlo jednat o degradační produkt vznikající při skladování. Následnými pokusy však bylo prokázáno, že se jedná o ionty vznikající při ionizaci a ne degradací chlorprofamu na slupce. Nicméně, DESI umožňuje rychlou, spolehlivou a citlivou analýzu nejen chlorprofamu, ale i dalších pesticidů a herbicidů. V kombinaci s přenosným přístrojem by bylo možné jej využít v terénu.⁷⁵

Dalším příkladem je analýza produktů osobní péče zafixovaných na modelu lidské pokožky – buňky fibroblastů.⁷⁶ Analýza se provádí z důvodů pochopení adsorpce těchto látek na pokožku a jejich účinků na lidské zdraví. Složkou nejvíce obsaženou v těchto produktech jsou organosiloxany. Lidské dermální fibroblasty byly izolovány z pokožky dospělého člověka. Testovány byly tři krémy tří kosmetických značek, které byly bez úpravy nanášeny na buňky. Analýzou byla zjištěna přítomnost jednoho typu cyklického siloxanu ve všech

vzorcích. V krému číslo 2 byly zjištěny některé druhy lineárních siloxanů a také ochranný prostředek proti slunečnímu záření. DESI umožňuje získat užitečné informace o obsahu siloxanů v krémech a to přímo z lidské pokožky. Dále bylo zjištěno, že DESI je šetrnou technikou, která nezpůsobila téměř žádné poškození buněk fibroblastů.⁷⁶

Ionizaci desorpční elektrosprejem lze využít i k tzv. zobrazování hmotnostní spektrometrií – MSI jako v případě analýzy rostlinných metabolitů na listech a okvětních lístcích (obr. 9) třezalky tečkované.⁷⁷ Povrch rostlin obsahuje řadu sekundárních metabolitů, jako jsou např. mastné kyseliny s velmi dlouhým uhlíkatým řetězcem, triterpenoidy, steroly a flavonoidy. Třezalka byla vybrána z důvodu specifické struktury obsahující žilky, tmavé a červené uzliny. Listy a okvětní lístky byly připevněny oboustrannou lepicí páskou k podložnímu sklíčku. Jako sprejovací kapalina byla využita nevodná směs obsahující chloroform a acetonitril a soustava tří rozpouštědel chloroform-acetonitril-voda. Analyzován byl list za použití obou sprejovacích kapalin. Získaná spektra si byla velmi podobná, ale intenzita signálu u soustavy tří rozpouštědel byla čtyři krát větší. Identifikována byla řada mastných kyselin. Dále byly analyzovány černé skvrny na povrchu listu opět soustavou tří rozpouštědel. Byla identifikována řada sekundárních metabolitů. Následně byl analyzován list po ošetření čistým chloroformem za použití sprejovací kapaliny acetonitril-voda. Chloroform odstranil z povrchu listu vrstvu vosku a umožnil analýzu dalších sekundárních metabolitů. Obdobně byly analyzovány i okvětní lístky. Získaná spektra byla podobná těm z listu, ale intenzita signálu byla lepší, což může být způsobeno jiným složením a tloušťkou voskové vrstvy. Data potvrdila potenciál DESI pro nedestruktivní zobrazování povrchu rostlinného materiálu.⁷⁷

Dalšími příklady použití DESI jsou analýza stopového množství anorganických oxidantů⁷⁸, analýza stopového množství nerovnoměrně distribuovaných látek na površích⁷⁹, speciace arsenu na pevném povrchu⁸⁰, analýza antioxidantů v matrici mazacích olejů⁸¹, detekce výbušnin na lidské pokožce⁸², detekce antihistaminika z lidské pokožky po požití tabletky⁷².



Obr. 9: Okvětní lístek třezalky tečkované: a) optický snímek, b)-e) obrazy získané analýzou (převzato z cit.⁷⁷)

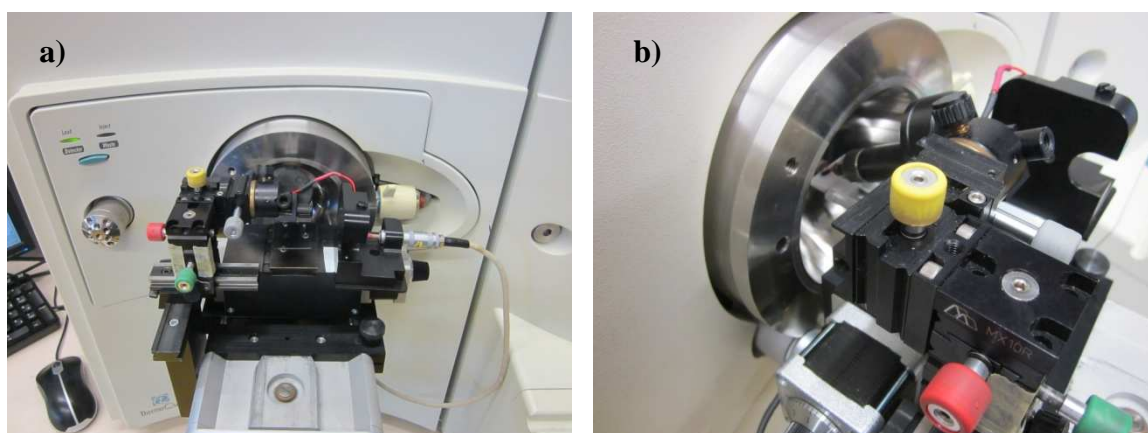
Desorpčním nanoelektrosprej

Desorpční nanoelektrosprej vychází z techniky DESI. Jedná se o její modifikaci ve zmenšeném měřítku, která funguje na podobném principu. Velikost sprejovací kapiláry se pohybuje v rozmezí 1-3 μm , z toho pak vyplývá menší spotřeba sprejovací kapaliny a menší nároky jsou kladeny i na množství vzorku použitého k analýze. Dalším podstatným rozdílem je, že se pro desorpci a ionizaci nepoužívá zmlžovací plyn.⁸³

Vývojem nanoDESI se od roku 2006 zabývají na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci. Iontový zdroj měl několik verzí, které byly postupně vylepšovány a zdokonalovány. Poslední verze vznikla v roce 2010, která od té doby došla několika vylepšení. Na obr. 10 je vidět konstrukce nanoDESI, která se skládá ze dvou částí upevněných na posuvných kolejničkách. Jedna část je držák sprejovací kapiláry, který dovoluje posun ve třech směrech (nahoru/dolu, doprava/doleva, dopředu/dozadu) pomocí barevně rozlišených šroubů a umožňuje nastavení vhodné geometrie.

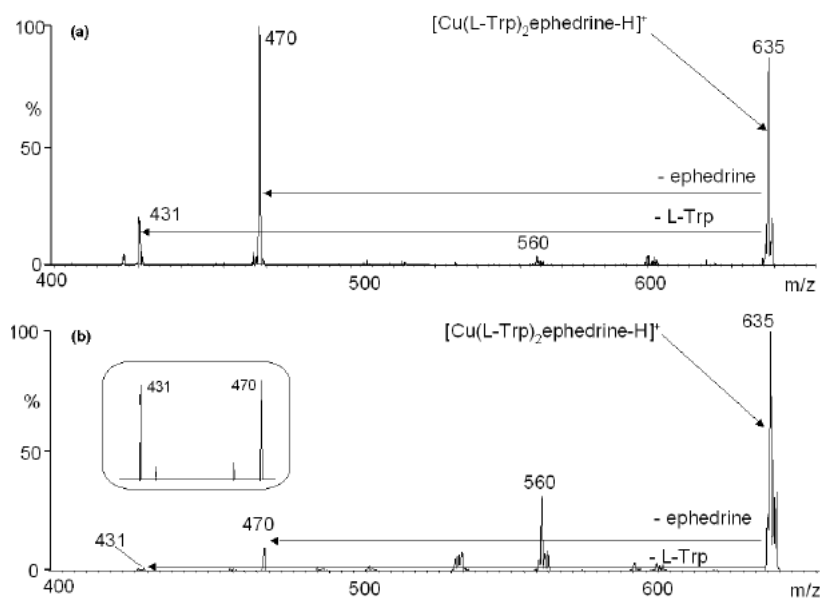
Druhá, nejnovější část je motorizované posuvné zařízení, na kterém je umístěn vzorek. Posun vzorku je možný ve dvou směrech doprava/doleva a dopředu/ dozadu dvěma motory ovládanými počítačem. Naprogramování umožňuje posun po jednotlivých krocích nebo kontinuálně. V případě, že není stůl napájen ze sítě, je možné provádět posun manuálně.^{83,84}

Další zlepšení bylo zaměřeno na reprodukovatelnost měření, kterého bylo dosaženo za pomoci teflonových pomůcek. Použity byly dva typy teflonových podložek, které byly připevněny k podložce vzorku a teflonový kroužek umístěný na vyhřívanou kapiláru hmotnostního spektrometru. Nejlepší reprodukovatelnosti bylo dosaženo se silnější teflonovou podložkou. Dále bylo zjištěno, že podložka zamezuje probíjení mezi sprejovací a vyhřívanou kapilárou a umožňuje analýzu tepelně nestabilních vzorků.⁸⁵



Obr. 10: Konstrukce iontového zdroje: a) pohled zepředu, b) pohled z boku

Desorpční nanoelektrosprej byl použit k chirální analýze modelových klinických vzorků obsahujících farmaceuticky významné látky: dihydroxyfenylalanin (DOPA), efedrin a ibuprofen.⁸⁶ Monitorování léčiv v lidské krvi je důležité z hlediska optimálního dávkování pro každého pacienta a možnosti zabránit řadě negativních účinků v důsledku předávkování. Analýza byla nejdříve pro srovnání provedena na ESI za použití roztoku obsahujícího analyt, centrální kov a chirální ligand. Centrálním kovem byl ve všech případech Cu^{2+} . Pro DOPA byl chirálním ligandem L-fenylalanin a pro zbylé dva analyty L-tryptofan. Následně byl 1 μl plné lidské krve s analytem nanesen na sklíčko a analyzován nanoDESI. Sprejovací kapalinou byl roztok metanolu : vody : kys. mravenčí obsahující Cu^{2+} a chirální ligand. Výsledek analýzy modelového vzorku plné lidské krve pomocí nanoDESI byl prakticky stejný jako výsledek analýzy standardů pomocí ESI (obr. 11).⁸⁶

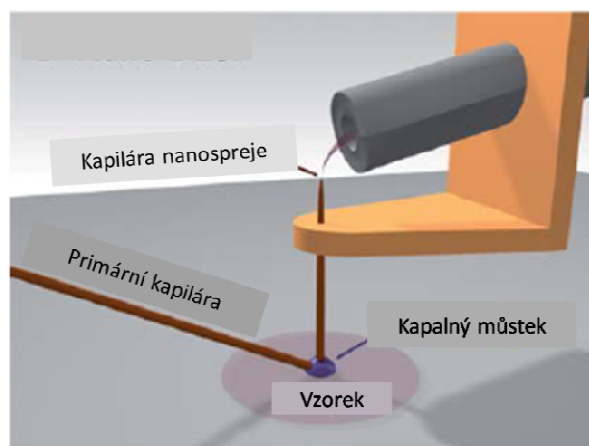


Obr. 11: Fragmentační spektrum klastru při analýze efedrinu: a) ESI, b) nanoDESI (převzato z cit.⁸⁶)

Další aplikací nanoDESI byla analýza anthokyaninů ve vzorcích vína a ovocných bobulích.⁸⁷ Anthokyaniny se řadí mezi flavonoidy, což jsou látky způsobující červené, fialové až modré zbarvení rostlin, které má velký význam. Za prvé lákají hmyz k opylování rostlin a za druhé chrání rostliny před UV zářením. Mají příznivý vliv na lidský organismus, kdy tělo chrání před oxidačním stresem, mají protizánětlivé účinky a inhibují některé nádorové buňky. K analýze bylo použito šest druhů červeného – tři odrůdy ve dvou ročnících, dále hrozny, bezinky a černý jeřáb a posledním vzorkem byla bílá tkanina se skvrnou červeného vína. U vzorků vín byl sledován obsah hlavních anthokyaninů, na základě kterého by mohly být rozlišeny bez předchozí separace. Vzorek vína byl nanesen na sklíčko a analyzován. Dále byla vytvořena směs dvou vín, jejíž analýzou měl být zjištěn poměr mezi těmito víny. Pracovalo se metodou kalibrační křivky. Možnosti nanoDESI byly hodnoceny na základě výsledků analýzy bobulovitého ovoce a skvrny červeného vína na bílé tkanině. NanoDESI dokáže odhalit dobarvování vín anthokyaniny z jiných druhů ovoce a jejich falšování nelegálním mícháním vín. Analýza tkaniny je ukázkou možného uplatnění nanoDESI ve forezních vědách, protože byla získána spektra, která odpovídala vzorku vína nanesenému na tuto tkaninu.⁸⁷

Desorpční nanoelektrosprej – Laskin

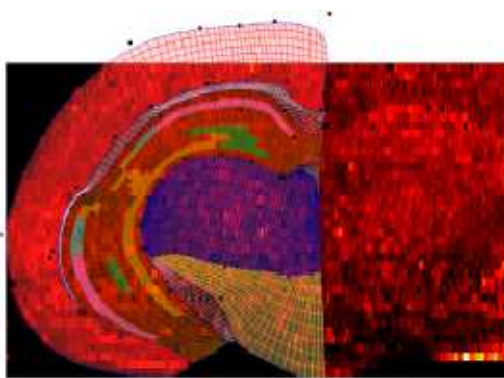
Jedná se o nano-DESI vyvinuté až v roce 2010 Julií Laskin a kolektiv v USA, které je jinak zkonstruované a funguje na jiném principu (obr. 12) než nanoDESI vyvinuté na Katedře analytické chemie PŘF UPOL. Analyt je desorbován z povrchu pomocí kapalinového můstku tvořeného rozpouštědlem a tento můstek je umístěný mezi dvěma kapilárami. První kapilára zajišťuje přísun rozpouštědla, které tvoří můstek a druhá kapilára zajišťuje přenos desorbovaného analytu ke vstupu do hmotnostního spektrometru. Celý děj probíhá díky napětí vloženému na první kapiláru a vstup do hmotnostního spektrometru.⁸⁸



Obr. 12: nanoDESI Laskin (převzato z cit.⁸⁸)

Tento typ nano-DESI byl využit k analýze, přesněji řečeno k zobrazení molekul tkání krysího mozku a lidské ledviny.⁸⁹ Imaging neboli zobrazování molekul pomocí hmotnostní spektrometrie se využívá k charakterizaci biologického materiálu v reálném čase. Lipidy jsou důležité signální molekuly zapojené do fyziologických procesů, jejich abnormální koncentrace a lokalizace je spojována s různými onemocněními. V této studii byl sledován cholesteryl ester. Z krysího mozku byly nařezány plátky tenké 10 μm , uloženy na sklíčko s vrstvou oxidů a skladovány při teplotě $-80\text{ }^\circ\text{C}$. Ledviny byly po zmrazení nařezány na plátky tenké 7 μm a byl u nich identifikován papilární karcinom. Taktéž byly uloženy na sklíčko s vrstvou oxidů a ochlazeny na $-80\text{ }^\circ\text{C}$. Po analýze byl obraz cholestryl esteru získaný nanoDESI porovnán překryvem s optickým obrazem získaným před analýzou a to s pozitivním výsledkem. nano-DESI zobrazování tak představuje nové možnosti detailního prostorového profilování biologických vzorků.⁸⁹

Podobnou studií bylo zobrazování nikotinu v krysím mozku.⁹⁰ Nikotin je návykovou látkou obsaženou v cigaretovém tabáku, ovlivňující acetylcholinové receptory v mozku. Nikotin způsobuje uvolnění dopaminu, který vyvolává pocity dobré nálady a potěšení a tím podpoří další příjem nikotinu, který vede k závislosti. Nikotin byl podán v jediné dávce intraperitoneálně v množství 10 mg/kg tělesné hmotnosti společně s dimethylsulfoxidem v objemu 1 ml/kg tělesné hmotnosti. Následně byly krysy usmrceny a jejich mozek hluboce zamrazen a nakrájen na plátky tenké několik μm . Kontrolním vzorkem byla tkáň krysy, které nebyl podán nikotin. Analýzou byl získán obraz znázorňující obsah nikotinu v jednotlivých částech mozku (obr. 13). nano-DESI je vhodné pro zobrazování drog a léčiv v tkáních.⁹⁰



Obr. 13: Iontový obraz nikotinu normalizovaný podle vnitřního standardu nikotinu-d ukazující lokalizaci do jednotlivých oblastí (převzato z cit.⁹⁰)

2.3. Podmínky ovlivňující proces desorpce/ionizace v DESI

2.3.1. Vliv sprejovací kapaliny

Rozpouštědlo použité jako sprejovací kapalina v DESI může výrazně ovlivnit proces ionizace a tedy i očekávaný výsledek. Z praxe je známo několik faktů: směs metanol/voda je standardní rozpouštědlo pro mnoho polárních látek a to v pozitivním i negativním módu, přídavek malého množství kyseliny ke sprejovací kapalině podpoří tvorbu iontů, existuje vztah mezi rozpustností sloučeniny v určitém rozpouštědle a úspěchem tohoto rozpouštědla při desorpční ionizaci.⁷³

Dalším poznatkem je, že povrchově aktivní analyty by měly být účinněji desorbovány z povrchu. Přídavek povrchově aktivní látky (PAL) ke sprejovací kapalině zlepšuje okamžitý proud a tím zlepšuje detekční limity. Příkladem takto používané PAL může být surfaktin.

Již jeho malá koncentrace ve sprejovací kapalině dokáže výrazně zlepšit citlivost a detekční limity. Uplatnění nacházejí PAL při analýze potravinářských chemikálií, výbušnin a léčiv.⁷³

Povaha sprejovací kapaliny a všech aditiv hraje důležitou roli při úpravě vzorku a ovlivňuje tak úspěšnost celé analýzy. Úprava vzorku může zahrnovat derivatizaci, pak se jedná o reaktivní DESI nebo přidavkem činidel modifikovat analyt a zvýšit tak efektivitu ionizace.⁷³

Existují práce zaměřené na nevodná rozpouštědla⁹¹ používaná jako sprejovací kapaliny v DESI nebo vliv rozpouštědel na ionizaci a prostorové rozlišení⁹².

2.3.2. Vliv povrchu

Na proces ionizace má vliv podklad, na kterém je vzorek umístěn a to hlavně z hlediska jeho vodivosti, chemického složení a struktury povrchu.⁷⁴

Mechanismus desorpčního elektrospreje zahrnuje krok, ve kterém nabitě kapičky dopadají na povrch vzorku. Je důležité zabránit jejich neutralizaci vhodnou volbou podkladu. K neutralizaci s největší pravděpodobností bude docházet u vodivých materiálů, jako jsou kov nebo grafit. V takovém případě je možné tento materiál vhodným způsobem izolovat. U nevodivých materiálů je třeba zvážit elektrostatické vlastnosti povrchu, na kterých silně závisí stabilita signálu. Například polytetrafluorethylen (PTFE) je silně elektronegativní polymer, který poskytuje velmi stabilní signál v negativním módu, zatímco polymethylmethakrylát (PMMA) pracuje lépe v pozitivním módu.⁷⁴

Z chemického hlediska je důležitá afinita molekul analytu k povrchu podkladu. Vysoká afinita může ve výsledku vést ke ztrátě citlivosti. Dále může povrch měnit chemické vlastnosti naneseného vzorku. U roztoků může dojít k ovlivnění krystalizace, což způsobí nerovnoměrné rozložení analytu na povrchu.⁷⁴

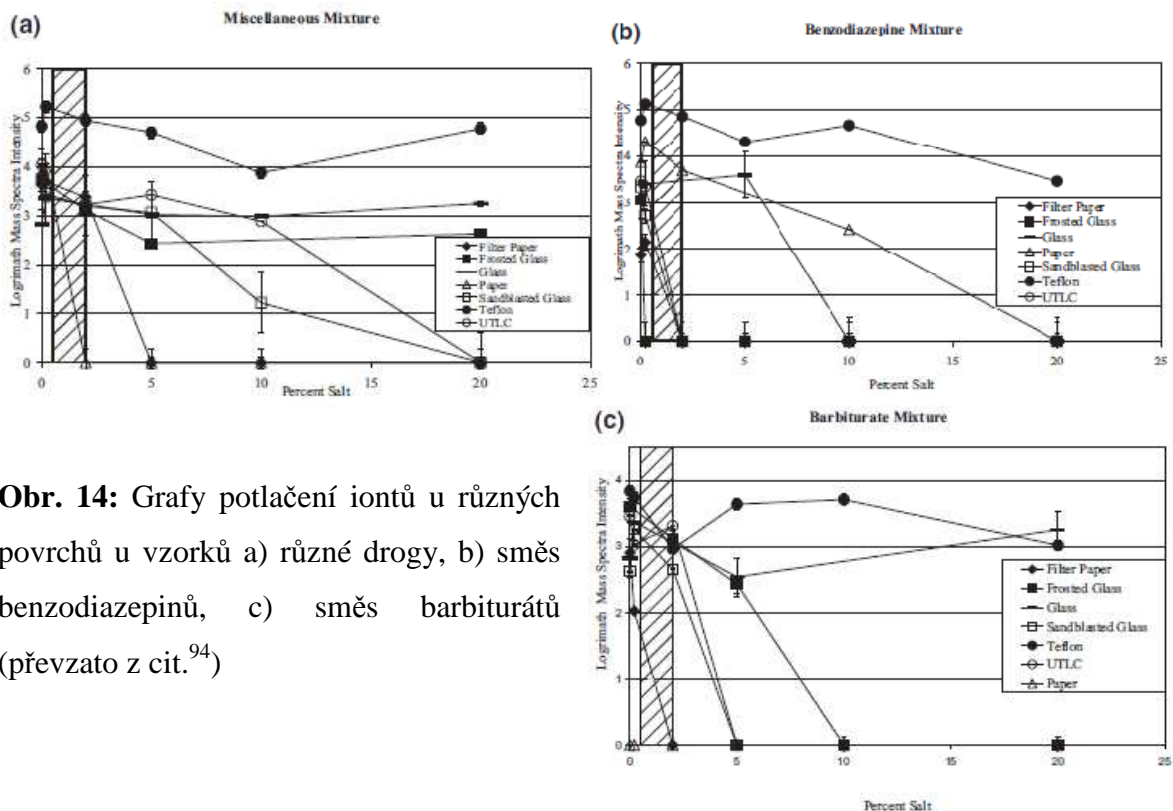
Drsnost povrchu také hraje svoji roli při desorpci a ionizaci. Mikroskopická sklíčka před a po leptání kyselinou chlorovodíkovou byla použita při analýze. Leptáním narušený povrch sklíčka vykazoval lepší stabilitu signálu než hladké sklíčko. Dále bylo zjištěno, že drsné povrchy vykazují vyšší citlivost. Z tohoto důvodu jsou častěji voleny jako podklad vzorku pro DESI analýzu.⁷⁴

Práci zaměřenou na vliv různých povrchů na detekční limity a další charakteristiky vypracovala T. J. Kauppila a kol.⁹⁴

2.3.3. Tolerance solí

Přítomnost solí ve vzorku může způsobit potlačení iontů a tím zhoršit kvalitu signálu. K potlačení dochází, protože soli mění účinnost tvorby kapek, což negativně ovlivňuje počet iontů dopravených do hmotnostního spektrometru. Tento problém může být vyřešen přidáním činidla do sprejovací kapaliny a buď selektivně zvýšit signál analytu, nebo selektivně potlačit signál nežádoucích iontů.⁹⁴

Studiem vlivu obsahu solí na analýzu pomocí DESI se zabýval Jackson a kol.⁹⁴ Jako vzorky použili tři směsi drog: různé drogy (pervitin, kokain a diacetylmorfin), směs benzodiazepinů (diazepam, nordiazepam a karbamazepin) a směs barbiturátů (aprobarbital, hexobarbital a fenobarbital). Směsi se skládaly ze standardů, každý o koncentraci 50 µg/ml v poměru (1:1:1). Byly připraveny roztoky o obsahu 0; 0,2; 2; 5; 10 a 20 % směsi NaCl:KCl (1:1), které pokryli oblast nad a pod fyziologickým obsahem (0,5 – 2 %) solí zjištěným u uživatelů drog. Všechny roztoky byly přidány ke vzorkům a skladovány při teplotě 5 °C. Analýza byla prováděna ze sedmi různých povrchů (papír, teflon a různé druhy sklíček). Jak je patrné z obrázku 14, nejlépe ze všech hodnocených povrchů u všech vzorků dopadl teflon, který vykazoval nejmenší potlačení iontů v celém rozsahu obsahu solí. Na obr. 14a-c je vyznačena šrafovaním oblast fyziologického obsahu solí. Všechny materiály vykazovali minimální potlačení iontů pod a v oblasti fyziologického obsahu solí. Nad touto oblastí se potlačení zvyšovalo pro většinu z nich. Dále byl testován přírůstek octanu amonného ke sprejovací kapaliny. Při analýze benzodiazepinů došlo k významnému potlačení tvorby aduktů a ke zvýšení signálu iontů analytu. DESI je k solím více tolerantní než ESI, ale tolerance závisí na použitém povrchu a lze ji korigovat činidly přidávanými do sprejovací kapaliny.⁹⁴



Obr. 14: Grafy potlačení iontů u různých povrchů u vzorků a) různé drogy, b) směs benzodiazepinů, c) směs barbiturátů (převzato z cit.⁹⁴)

2.4. Povrchové rozlišení

Hmotnostně spektrometrické techniky se liší svým povrchovým rozlišením. Volit je můžeme na základě nároků na rozlišení a druhu analyzovaného vzorku. Například při analýze celých těl živočichů je dostačující povrchové rozlišení 500 μm . Lepší rozlišení (200 μm) se volí při analýze orgánů a pro analýzu malých vzorků se obvykle volí rozlišení v rozsahu 20-200 μm . Určitým limitem v povrchovém rozlišení je průměr ionizujícího paprsku.⁵⁷

Technika MALDI umožňuje zobrazování menší než je průměr profilu laserového paprsku. Důvodem je, že rastrový přírůstek je menší než průměr paprsku, takže nedochází k tak velkému generování signálu matrice. Při analýze může být snímán analyt o velikosti 30 μm paprskem o průměru 150 μm .⁵⁷

Hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů má největší potenciál v oblasti povrchového rozlišení. Při zobrazování biologických buněk bylo dosaženo rozlišení 1 μm . Nicméně je vhodná spíše pro analýzu vzorků s velkým obsahem analytu. SIMS obtížně zobrazuje sloučeniny nebo metabolity v tkáních o koncentraci terapeutických dávek.⁵⁷

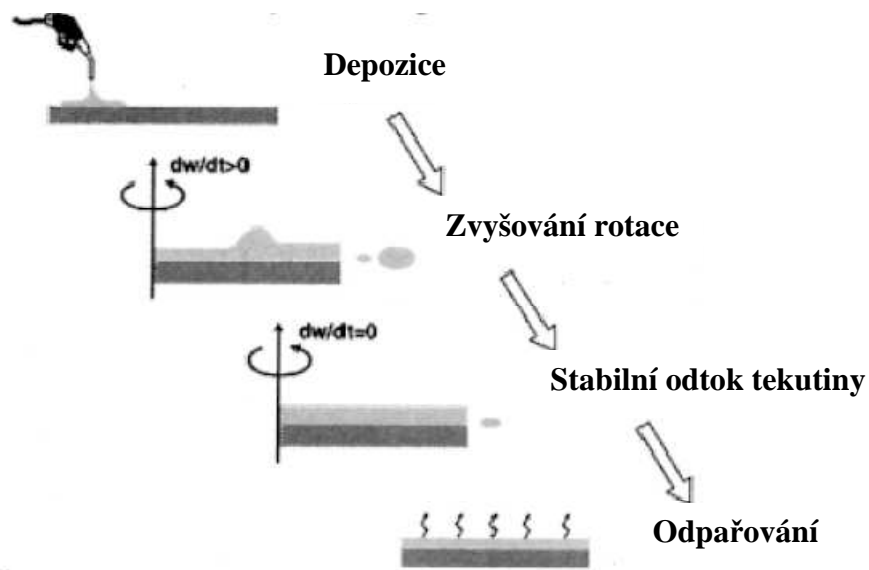
V případě DESI se povrchové rozlišení liší v závislosti na analyzovaném vzorku. U biologických tkání bylo dosaženo rozlišení v rozmezí 200-500 μm . U nebiologických vzorků bylo rozlišení lepší, asi 40 μm . Možnosti povrchového rozlišení jsou dány průměrem sprejovací kapiláry a její vzdáleností od analyzovaného povrchu. Dosažené povrchové rozlišení je výrazně nižší než průměr dopadajícího spreje.⁵⁷

2.5. Spincoating

Spincoating neboli rotační nanášení je v současné době převládající technikou používanou pro nanesení rovnoměrného tenkého filmu nejrůznějších organických materiálů. Tloušťka nanesené vrstvy se pohybuje v řádu mikrometrů až nanometrů. Vůbec první experimenty byly provedeny před více než padesáti lety. V principu odstředivá síla pohání kapalinu radiálním směrem ven. Viskozita a povrchové napětí způsobí vznik tenkého filmu na povrchu podkladu. Film se ztenčuje díky kombinaci proudění tekutiny směrem ven a odpařování. Parametry podílejícími se na procesu rotačního nanášení jsou: dávkovaný objem, konečná rychlost odstředování, viskozita a koncentrace roztoku a doba rotace. Na základě těchto parametrů lze vypočítat výslednou tloušťku vzniklého filmu a rádius šíření.⁹⁵

Proces lze rozdělit do několika fází (obr. 15)⁹⁵:

1. Depozice – během této fáze se na povrch podkladu nadávkuje stříkačkou nadbytek roztoku a substrát začne rotovat
2. Zvyšování rotace – fáze, kdy substrát zrychlí na konečnou rychlost a dojde k vyloučení velkého množství tekutiny najednou
3. Stabilní odtok tekutiny – substrát se otáčí konstantní rychlostí a chování ztenčující se tenké vrstvy ovládají viskozitní síly
4. Odpařování – substrát se otáčí konstantní rychlostí a dochází k odpařování rozpouštědla



Obr. 15: Schematické znázornění procesu spincoatingu (převzato z cit.⁹⁵)

Výhodou této techniky je, že změnou nastavení otáček lze měnit tloušťku naneseného filmu. Nevýhodou je, že podklady větších rozměrů nemohou rotovat vysokou rychlostí a také to, že z celkového množství použitého roztoku zůstanou na substrátu asi 2-5 % a zbývajících 95-98% jsou ztráty.⁹⁵

Spincoating je využíván při výrobě integrovaných obvodů, DVD a CD disků, optických zrcadel, solárních článků, antireflexních vrstev apod.⁹⁵

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Chemikálie a instrumentace

Chemikálie použité pro následující pracovní postupy byly voda pro HPLC (Direct-Q UV, Millipore, Bedford, USA), ethanol pro HPLC (Merck, Darmstadt, Německo), methanol pro HPLC (VWR International Sas, Prolabo chemicals, Francie), ethylacetát (Lachema, Brno, Česká Republika), aceton (Chromservis, Praha, Česká Republika), kyselina mravenčí pro HPLC (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) a chlorid sodný (Lachema, Brno, Česká Republika).

Analyzován byl rhodamin B (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika) a dva permanentní fixy dvou výrobců: červený (Centropen Permanent 2846, 1 mm, Česká republika) a modrý (Edding, 141F, Japonsko).

Pro spincoating byl použit spin coater (Spin 150, SPS-Europe B.V., Nizozemí). Rysky byly vytvořeny pomocí pulsního Nd:YAG laseru 1064 nm (Lasag, Thun, Švýcarsko) a Q-switch pulsního Nd:YFL Quantronix 527 DP-N laseru (Quantronix, San Jose, USA). Všechny vzorky byly analyzovány hmotnostním spektrometrem s iontovou pastí (LCQ DECA, Thermo Finnigan, San Jose, USA) a iontovým zdrojem – desorpčním nanoelektrosprejem s instalovaným posuvným zařízením ovládaným počítačem (obr. 16). Tento iontový zdroj byl vyvinut na Katedře analytické chemie PřF UP v Olomouci. Sprejování bylo provedeno sprejovací kapilárou (Pico Tip Emitter, Glass Tip, ID = 2 ± 1 μm ; New Objectiv, Woburn, USA). Vzorky byly aplikovány na zdrsňenou i hladkou část sklíčka (Thermo Scientific, Německo; Marienfeld, Laboratory glassware, Německo).



Obr. 16: Desorpční nanoelektrosprej vyvinutý na Katedře analytické chemie Univerzity Palackého v Olomouci spojený s hmotnostním spektrometrem LCQ DECA (Thermo Finnigan, USA)

3.2. Pracovní postup

3.2.1. Smáčení

Po nanesení vzorku (lihový červený fix centropen) na zdrsňenou část sklíčka, bylo sklíčko vystaveno působení par rozpouštědla MeOH:H₂O (50:50; v/v). Rozpouštědlo bylo umístěno v uzavřené kádince, aby došlo k nasycení prostoru nad hladinou jeho parami.

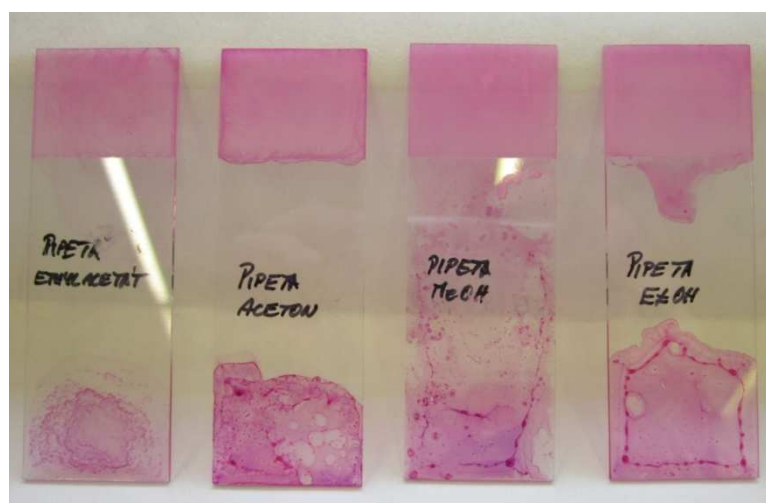
Pro analýzu byla sprejovací kapilára naplněna stejným rozpouštědlem, které bylo použito pro smáčení vzorku.

3.2.2. Příprava homogenní vrstvy rhodaminu B

Pro přípravu homogenní vrstvy rhodaminu B na zdrsňenou i hladkou část sklíčka bylo využito několika postupů: nanesení pipetou, nanesení fixírkou a spincoating.

Nanesení pipetou

Roztok rhodaminu B o koncentraci 500 mg/l a objemu 16 ml byl připraven ve čtyřech variantách podle použitého rozpouštědla: methanol, ethanol, ethylacetát a aceton. Z každého roztoku byly pipetou odebrány 2 ml roztoku a nanoseny na očištěnou zdrsňenou i hladkou část sklíčka (obr. 17). Sledována byla rozpustnost rhodaminu B v jednotlivých rozpouštědlech a homogenost vytvořené vrstvy pomocí spektrofotometru.



Obr. 17: Sklíčka po nanesení roztoků pipetou

Nanesení fixírkou

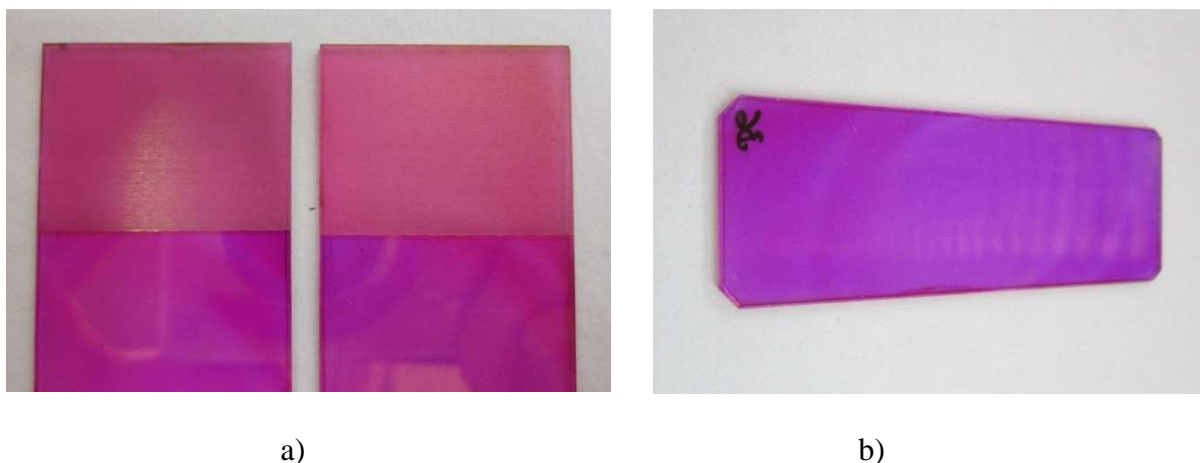
Pro tento postup byly využity stejné čtyři varianty roztoků rhodaminu B jako v předchozím případě. Roztok byl přelit do nádobky, která je součástí fixírky. Následně bylo provedeno nanesení rhodaminu B na očištěnou hladkou i zdrsňenou část sklíčka (obr. 18). Homogennost vrstvy byla opět hodnocena pomocí spektrofotometru.



Obr. 18: Sklíčka po nanesení roztoků fixírkou

Spincoating

Aplikace byla provedena na Katedře experimentální fyziky. Očištěná sklíčka byla nejdříve temperována topnou ploténkou na teplotu 80 °C a následně byla vakuem uchycena v spin-coateru. Po zchlazení sklíčka bylo pipetou nanášeno 1000 μ l rhodaminu B rozpuštěného v ethanolu. Rotací sklíčka bylo dosaženo rovnoměrného rozvrstvení roztoku (obr. 19). Zbylý ethanol byl odpařen zahřátím sklíčka na topné ploténce při teplotě 80 °C. Spodní část sklíčka byla očištěna pomocí čistého ethanolu. Vrstva byla nanášena na hladké i zdrsňené sklíčko. Homogennost byla opět hodnocena spektrofotometricky.



Obr. 19: Sklíčka po spincoatingu: a) zdrsňené, b) hladké

3.2.3. Aplikace laseru – vytvoření rysek ve vrstvě rhodaminu B

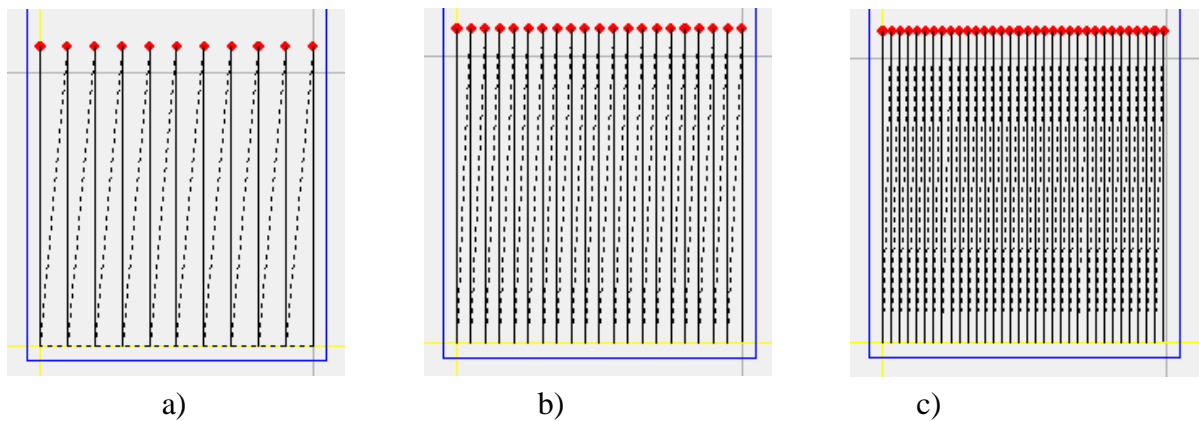
Sklička byla připravena ve spolupráci se Společnou laboratoří optiky Univerzity Palackého a Fyzikálního ústavu Akademie věd České Republiky. Pro vytvoření rysek byla použita sklička s homogenní vrstvou rhodaminu B připravenou technikou spincoatingu. První a poslední ryska byly umístěny 7 mm od delšího okraje sklička.

Zdrsňené a hladké skličko – laser Nd:YAG laseru 1 064 nm

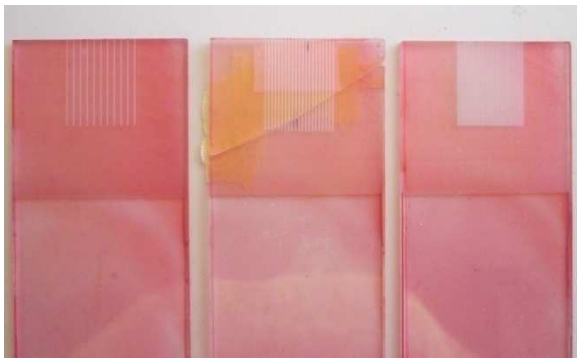
Barevné mezery mezi ryskami byly vyhotoveny ve třech provedeních (Tab. I). Teoretická šíře rysky byla 200 μm , podle počtu aplikovaných rysek na danou oblast sklička se měnila šíře barevné mezery mezi ryskami (obr. 20, 21). Sklička byla při ablaci uchycena na mosazných nosičích ve svěráku vrstvou rhodaminu B nahoru (obr. 22).⁹⁶

Tab. I: Tři provedení laserové ablace na zdrsňeném skličku⁹⁶

| Provedení | Rozteč rysek (mm) | Počet rysek | Rozměr mezery (μm) |
|------------------|--------------------------|--------------------|---|
| a) | 1 | 11 | 800 |
| b) | 0.5 | 21 | 300 |
| c) | 0.3 | 34 | 100 |



Obr. 20: Vizualizace laserové ablace ve třech provedeních (převzato z cit.⁹⁶)



Obr. 21: Zdrsněné sklíčko po ablaci laserem (převzato z cit.⁹⁶)



Obr. 22: Uchycení sklíček (převzato z cit.⁹⁶)

Hladké sklíčko – Q-switch pulsní Nd:YFL Quantronix 527 DP-N

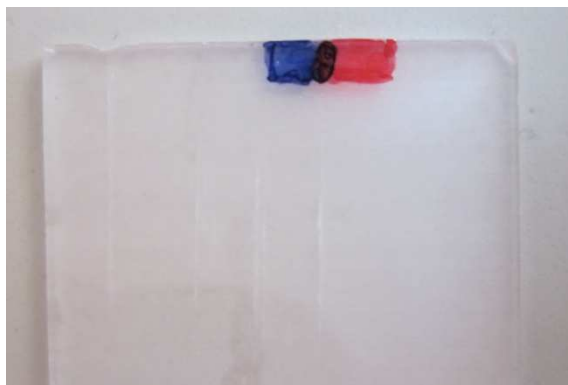
Barevné mezery mezi ryskami byly vyhotoveny pouze ve dvou provedeních a to s roztečí rysek 1 a 0,5 mm (obr. 23). Podle počtu aplikovaných rysek na danou oblast sklíčka se měnila šíře barevné mezery mezi ryskami.⁹⁶



Obr. 23: Hladké sklíčko po ablaci laserem

3.2.4. Příprava sklíčka s překrytými inkousty

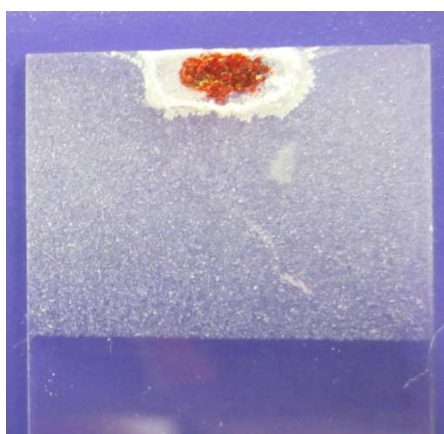
Vzorek byl připraven nanesením modrého inkoustu v podobě silnější čáry ke kratšímu okraji zdrsněného sklíčka. Po zaschnutí modrého inkoustu byl obdobným způsobem nanesen červený inkoust tak, aby došlo k částečnému překryvu obou inkoustů (obr. 24).



Obr. 24: Překryv inkoustů

3.2.5. Příprava zasoleného vzorku

Rozpuštěním chloridu sodného v 8 ml vody byl připraven roztok o koncentraci 5 mol/l. Následně byl připraven vzorek (obr. 25): na zdrsněnou část sklíčka byl nanesen roztok NaCl, po zaschnutí byl na vzniklé krystalky soli fixem nanesen červený inkoust.



Obr. 25: Krystalky soli obarvené červeným inkoustem

3.2.6. nanoDESI

Vzorky připravené dle postupů popsaných výše (kap. 3.2.1., 3.2.3., 3.2.4., 3.2.5.) byly analyzovány pomocí nanoDESI. Srejšovací kapilára byla pro všechna měření naplněna okyseleným rozpouštědlem MeOH:H₂O (50:50; v/v) 2 % HCOOH, jehož účinnost byla prověřena v předchozích experimentech. Sklíčka po smáčení byla měřena klasickým způsobem, tedy z jednoho bodu při daném nastavení geometrie sprejšovací kapiláry. Sklíčka s překrytími inkousty a zasolenými vzorky byly měřeny při daném nastavení geometrie sprejšovací kapiláry za kontinuálního posunu, sklíčka s ryskami při kontinuálním a skokovém posunu.

3.3. Experimentální podmínky

3.3.1. Spincoating

Spincoater byl nastaven na rychlost 3000 rpm (otáček za minutu) na dobu 30 sekund se zrychlením 1500 rpm/s.

3.3.2. Parametry laseru

Laser Nd:YAG 1 064 nm

Rychlost pohybu sklíčka byla 3 mm/s, frekvence pulsu byla 150 Hz, puls měl délku 0,2 ms. Energie pulsu byla postupně zvyšována, dokud nedošlo k odstranění rhodaminu B z povrchu sklíčka. V případě zdrsňného sklíčka byla energie pulsu 140 mJ, u hladkého sklíčka byla energie pulsu 270-300 mJ.⁹⁶

Pulsní laser Q-switch Nd:YFL Quantronix 527 DP-N

Rychlost pohybu sklíčka byla 6 mm/s, frekvence pulsu byla 1000 Hz, puls měl délku 150 ns. Energie pulsu byla 1,9 mJ.⁹⁶

3.3.3. nanoDESI

Na sprejšovací kapiláře bylo nastaveno napětí 3 kV. Teplota vyhřívané kapiláry byla 200 °C a napětí na vyhřívané kapiláře bylo nastaveno na 15 V. Měření probíhalo v pozitivním módu a nastavení optiky přístroje bylo automatické (součást software). Kontinuální posun byl řízen počítačem, parametry posunu uvádí tabulka II.

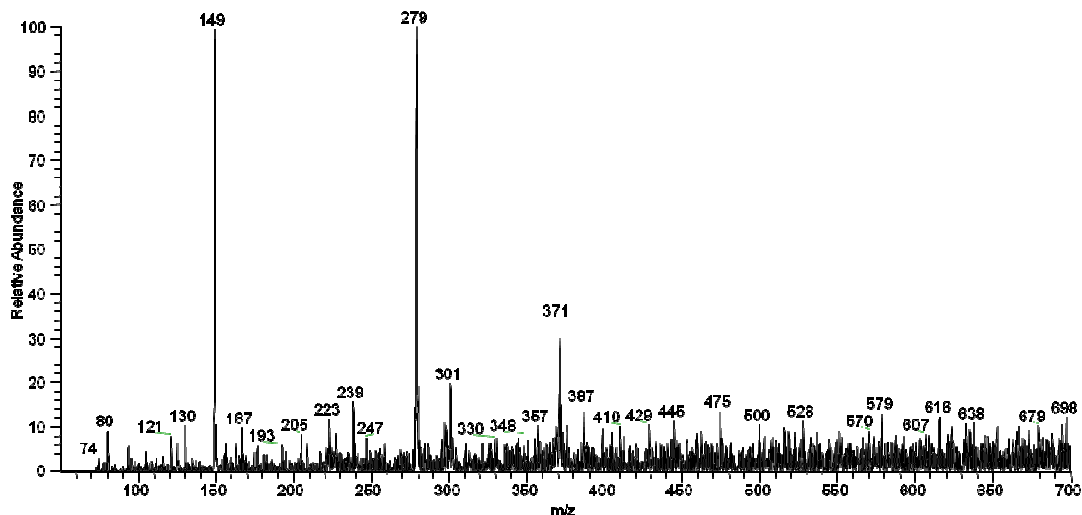
Tab. II: Rychlost kontinuálního posunu

| Rychlost $\mu\text{m/s}$ | Čas proměření 1 mm (s) | Startovací frekvence | Pracovní frekvence |
|--|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| 5 | 200 | 2 | 2 |
| 25 | 40 | 10 | 10 |
| 50 | 20 | 20 | 20 |
| 100 | 10 | 35 | 35 |

4. VÝSLEDKY A DISKUZE

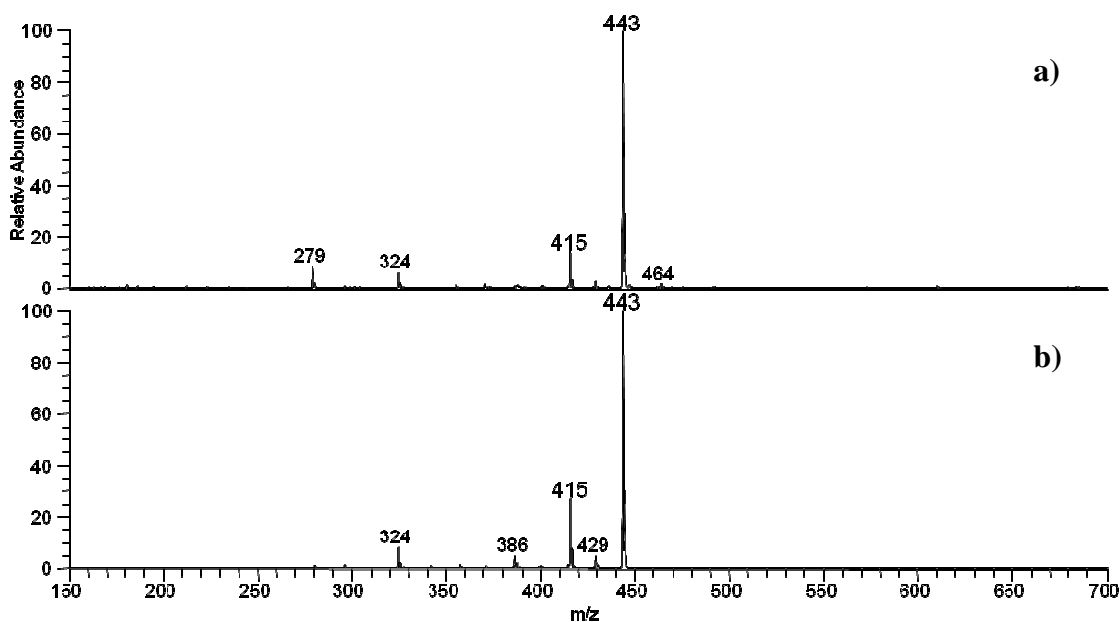
4.1. Vliv smáčení na intenzitu signálu

Na obr. 26 je uvedeno spektrum slepého pokusu, které ukazuje ionty generované použitým rozpouštědlem.



Obr. 26: nanoDESI – spektrum slepého pokusu

Spektra uvedená na obr. 27 byla pořízena při analýze červeného fixu před smáčením a po smáčení. V obou případech byla jasně prokázána přítomnost rhodaminu B, jemuž odpovídá pík při $m/z = 443$ (Basic Red 1).⁹⁷ Rozdíl byl patrný u hodnot intenzit signálů. V prvním případě, tedy před smáčením, byla intenzita signálu iontu $m/z = 443 = 5,93 \cdot 10^5$. Ve druhém dosáhla intenzita signálu iontu $m/z = 443$ hodnoty $3,13 \cdot 10^8$.



Obr. 27: nanoDESI- spektra rhodaminu B: a) před smáčením, b) po smáčení

Z tohoto prvního provedeného experimentu je patrné, že smáčení by mohlo pozitivně ovlivnit proces desorpce/ionizace vzorku a tím zlepšit signál a čistotu spektra.

4.2. Homogenní vrstva rhodaminu B

Rozpustnost rhodaminu B se u některých rozpouštědel lišila. V acetonu se rhodamin B nerozpustil úplně, na dně nádoby byly pozorovány shluky rhodaminu B. Obdobně tomu bylo i v ethylacetátu a navíc měl rhodamin B jinou barvu vlivem solvatace. Naopak, výborně se rhodamin B rozpouštěl v methanolu a ethanolu bez změny barvy.

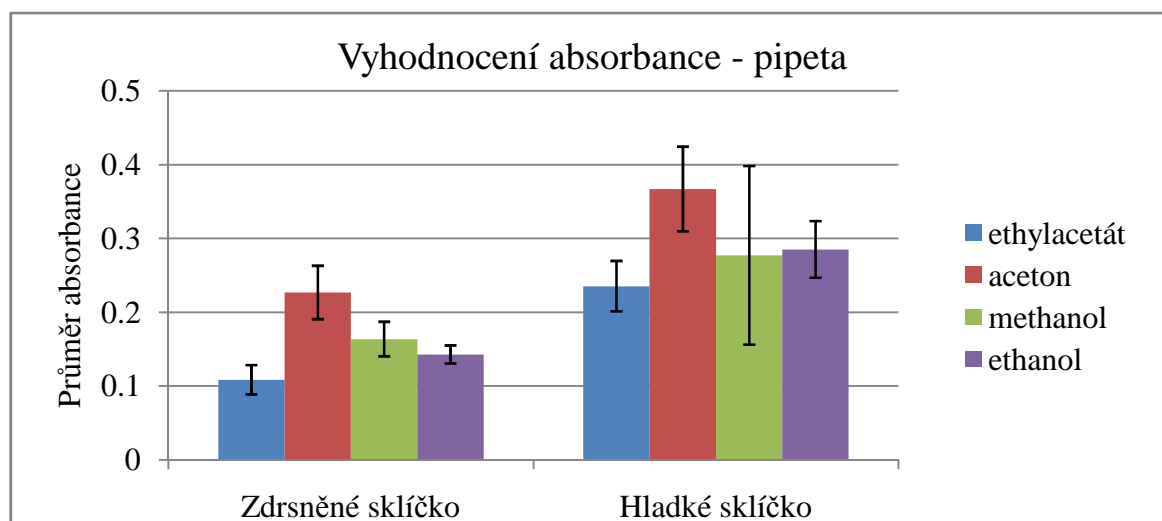
4.2.1. Nanesení pipetou

Po odpaření rozpouštědla byla sklíčka vyhodnocena vizuálně i spektrofotometricky. Z vizuálního hodnocení dopadla lépe zdrsňená sklíčka, kde se vrstva rhodaminu B jevila homogennější. Na hladkém sklíčku byly vidět tenké linky rhodaminu B nebo mapy ohraničené rhodaminem B, což mohlo být způsobeno postupným odpařováním rozpouštědla od středu ke kraji sklíčka. Tento závěr potvrdila data získaná ze spektrofotometru (Tab. III).

Tab. III: Absorbance vrstvy rhodaminu B po nanesení pipetou

| Rozpouštědlo Sklíčko | | Absorbance | | | | Nanesení pipetou | | | | |
|----------------------|----------|------------|-------|-------|-------|------------------|-------|----------|------------|-------|
| | | | | | | Průměr | Směr. | Odchylka | Rel. Směr. | Odch. |
| Ethylacetát | zdrsňené | 0.091 | 0.093 | 0.128 | 0.137 | 0.093 | 0.108 | 0.020 | 18.354 | |
| | hladké | 0.289 | 0.199 | 0.203 | 0.227 | 0.258 | 0.235 | 0.034 | 14.517 | |
| Aceton | zdrsňené | 0.219 | 0.187 | 0.194 | 0.248 | 0.285 | 0.227 | 0.036 | 15.981 | |
| | hladké | 0.378 | 0.360 | 0.345 | 0.287 | 0.464 | 0.367 | 0.057 | 15.644 | |
| Methanol | zdrsňené | 0.124 | 0.160 | 0.197 | 0.170 | 0.167 | 0.164 | 0.023 | 14.332 | |
| | hladké | 0.438 | 0.366 | 0.303 | 0.157 | 0.121 | 0.277 | 0.121 | 43.697 | |
| Ethanol | zdrsňené | 0.132 | 0.124 | 0.152 | 0.150 | 0.155 | 0.143 | 0.012 | 8.618 | |
| | hladké | 0.315 | 0.234 | 0.249 | 0.292 | 0.335 | 0.285 | 0.038 | 13.449 | |

Graf I: Vyhodnocení hodnot absorbance



V případě použití methanolu a ethanolu jako rozpouštědla dopadlo lépe zdrsňené sklíčko. U acetonu byl výsledek vyrovnaný a v případě ethylacetátu byl výsledek příznivější pro hladké sklíčko. Na základě informací z grafu I byl jako nejlepší varianta vyhodnocen ethanol na zdrsňeném sklíčku. Nicméně, odchylky v absorbanci byly ve všech případech poměrně velké a hodnoty absorbance nízké, a proto se přistoupilo k experimentu s fixírkou.

4.2.2. Nanesení fixírkou

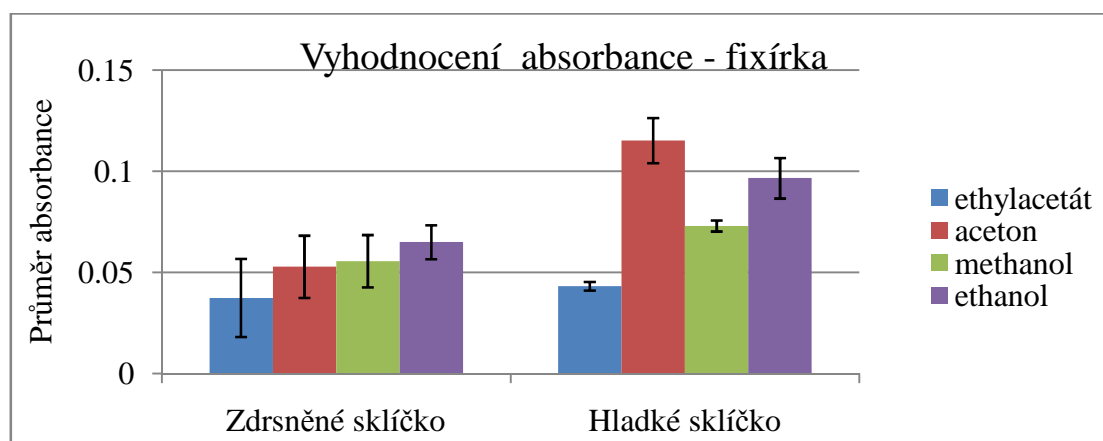
Opět bylo provedeno vizuální i spektrofotometrické hodnocení homogenosti tenké vrstvy rhodaminu B. Po vizuální stránce dopadlo lépe zdrsňené sklíčko, stejně jako při nanášení pipetou. V případě hladkého sklíčka byly pozorovány jemné kapičky rhodaminu B. V porovnání s nanášením pipetou byl vzhled vrstvy lepší, ale nedostatečný.

Výsledek spektrofotometrického hodnocení byl opačný (Tab. IV). Ve všech případech dopadlo lépe hladké sklíčko, kdy odchylka absorbance se pohybovala maximálně do 10 % a jako nejlepší rozpouštědlo se jevil methanol. U zdrsňeného sklíčka byly výsledky značně horší. Odchylka absorbance se pohybovala až k 51 %. Z použitých rozpouštědel dopadl nejlépe ethanol.

Tab. IV: Absorbance vrstvy rhodaminu B po nanesení fixírkou

| | | Nanesení fixírkou | | | | | | | |
|--------------|----------|-------------------|-------|-------|-------|-------|--------|----------------|------------------|
| Rozpouštědlo | Sklíčko | Absorbance | | | | | Průměr | Směr. Odchylka | Rel. Směr. Odch. |
| Ethylacetát | zdrsňené | 0.014 | 0.022 | 0.031 | 0.057 | 0.063 | 0.037 | 0.019 | 51.642 |
| | hladké | 0.040 | 0.046 | 0.043 | 0.045 | 0.042 | 0.043 | 0.0021 | 4.943 |
| Aceton | zdrsňené | 0.030 | 0.039 | 0.068 | 0.061 | 0.066 | 0.053 | 0.015 | 29.13 |
| | hladké | 0.110 | 0.098 | 0.114 | 0.130 | 0.124 | 0.115 | 0.011 | 9.673 |
| Methanol | zdrsňené | 0.038 | 0.044 | 0.057 | 0.070 | 0.069 | 0.057 | 0.013 | 23.518 |
| | hladké | 0.077 | 0.075 | 0.072 | 0.069 | 0.072 | 0.073 | 0.0028 | 3.777 |
| Ethanol | zdrsňené | 0.058 | 0.054 | 0.078 | 0.068 | 0.067 | 0.065 | 0.0084 | 12.908 |
| | hladké | 0.082 | 0.091 | 0.097 | 0.112 | 0.101 | 0.097 | 0.010 | 10.364 |

Graf II: Vyhodnocení hodnot absorbance



Nelze opomenout, že při nanesení fixírkou byla vrstva rhodaminu B poměrně slabá a naměřené hodnoty absorbance byly ve srovnání s nanesením pipetou ještě nižší a odchylky vyšší, proto bylo při experimentu se spincoatingem spíše přihlédnuto k výsledkům nanášení pipetou.

4.2.3. Spincoating

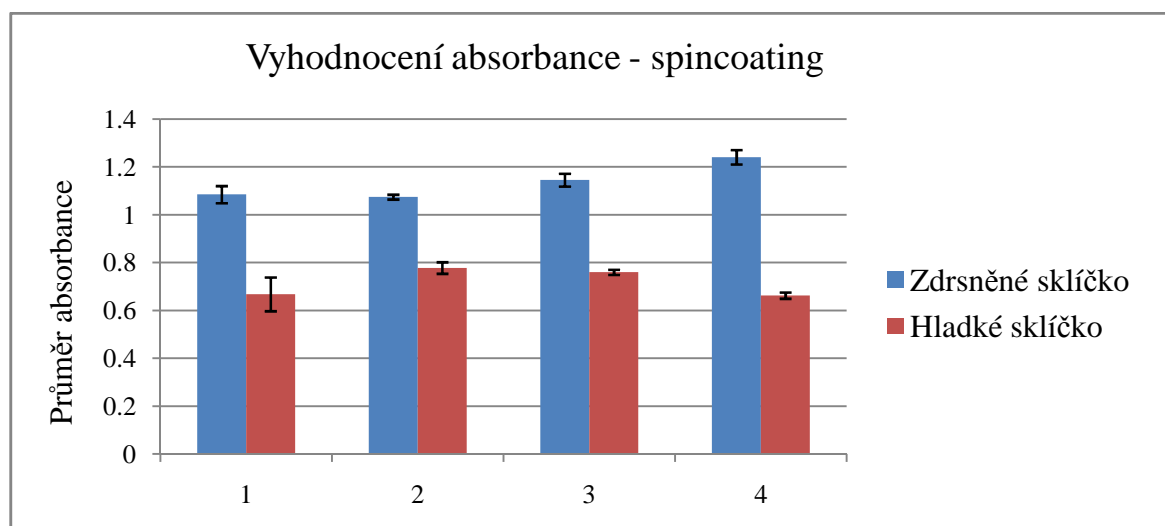
Na základě informací získaných z předchozích experimentů byl při spincoatingu použit roztok rhodaminu B v ethanolu. Z vizuálního hlediska vypadala hladká i zdrsňená sklíčka lépe než v předchozích experimentech. Z naměřených hodnot absorbance vyplynulo, že vrstva je dostatečně homogenní a to jak u zdrsňeného, tak i hladkého sklíčka (Tab. V).

Tab. V: Absorbance vrstvy rhodaminu B po spincoatingu

| Zdrsňené sklíčko | | | | | | | |
|------------------|------------|-------|-------|-------|--------|----------------|---------------------|
| Číslo sklíčka | Absorbance | | | | Průměr | Směr. Odchylka | Rel. Směr. Odchylka |
| 1 | 1.129 | 1.096 | 1.085 | 1.030 | 1.085 | 0.035644074 | 3.285168096 |
| 2 | 1.087 | 1.081 | 1.062 | 1.068 | 1.075 | 0.009962429 | 0.927168862 |
| 3 | 1.174 | 1.116 | 1.122 | 1.170 | 1.146 | 0.026622359 | 2.324081975 |
| 4 | 1.285 | 1.247 | 1.232 | 1.201 | 1.241 | 0.030218992 | 2.434561319 |

| Hladké sklíčko | | | | | | | |
|----------------|------------|-------|-------|-------|--------|----------------|---------------------|
| Číslo sklíčka | Absorbance | | | | Průměr | Směr. Odchylka | Rel. Směr. Odchylka |
| 1 | 0.766 | 0.703 | 0.614 | 0.589 | 0.668 | 0.070685925 | 10.58172531 |
| 2 | 0.816 | 0.776 | 0.750 | 0.770 | 0.778 | 0.023958297 | 3.079472635 |
| 3 | 0.769 | 0.746 | 0.754 | 0.772 | 0.760 | 0.010685855 | 1.405571212 |
| 4 | 0.680 | 0.663 | 0.665 | 0.643 | 0.663 | 0.013160072 | 1.985676679 |

Graf III: Vyhodnocení hodnot absorbance



Až na jedno sklíčko se odchylka absorbance pohybovala maximálně do 3 %. Metoda spincoatingu byla vyhodnocena jako nejlepší pro vytvoření homogenní vrstvy rhodaminu B a to i z hlediska opakovatelnosti, protože celý proces probíhá v přístroji za definovaných a neměnných podmínek.

4.2.4. Porovnání způsobů nanášení

Tabulka VI přehledně uvádí porovnání všech způsobů nanášení rhodaminu B na hladká a zdrsňená sklíčka. Z tabulky lze vyčíst, že nanášení pipetou dopadlo lépe u zdrsňeného sklíčka a naopak nanášení fixírkou bylo lepší u hladkého sklíčka a techniky se hodně lišily svými relativními směrodatnými odchylkami, tzn. nešlo využít jen jeden typ nanášení pro obě sklíčka a vytvořit tak v obou případech přibližně stejně homogenní vrstvy rhodaminu B. Navíc, naměřené hodnoty absorbance byly poměrně nízké.

Tab. VI: Porovnání způsobů nanášení

| | | | Průměr | Směr. Odchylka | Rel. Směr. Odch. |
|-------------|----------|---------|---------------|-----------------------|-------------------------|
| Ethylacetát | zdrsňené | pipeta | 0.108 | 0.020 | 18.354 |
| | | fixírka | 0.037 | 0.019 | 51.642 |
| | hladké | pipeta | 0.235 | 0.034 | 14.517 |
| | | fixírka | 0.043 | 0.0021 | 4.943 |
| Aceton | zdrsňené | pipeta | 0.227 | 0.036 | 15.981 |
| | | fixírka | 0.053 | 0.015 | 29.130 |
| | hladké | pipeta | 0.367 | 0.057 | 15.644 |
| | | fixírka | 0.115 | 0.011 | 9.673 |
| Methanol | zdrsňené | pipeta | 0.164 | 0.023 | 14.332 |
| | | fixírka | 0.057 | 0.013 | 23.518 |
| | hladké | pipeta | 0.277 | 0.121 | 43.697 |
| | | fixírka | 0.073 | 0.0028 | 3.777 |
| Ethanol | zdrsňené | pipeta | 0.143 | 0.012 | 8.618 |
| | | fixírka | 0.065 | 0.0084 | 12.908 |
| | hladké | pipeta | 0.285 | 0.038 | 13.449 |
| | | fixírka | 0.097 | 0.010 | 10.364 |
| Spincoating | zdrsňené | | 1.085 | 0.036 | 3.285 |
| | | | 1.075 | 0.010 | 0.927 |
| | | | 1.146 | 0.027 | 2.324 |
| | | | 1.241 | 0.030 | 2.435 |
| | hladké | | 0.668 | 0.071 | 10.582 |
| | | | 0.778 | 0.024 | 3.079 |
| | | | 0.760 | 0.011 | 1.406 |
| | | | 0.663 | 0.013 | 1.986 |

Metodou spincoatingu bylo dosaženo lepších výsledků. U obou sklíček byla naměřena vysoká hodnota absorbance a relativní směrodatné odchylky byly malé a podobné.

4.3. Rysky ve vrstvě rhodaminu B

4.3.1. Vyhodnocení ablace laserem

Na obr. 28 a 29 jsou snímky pro všechna tři provedení laserové ablace jak zdrsňného, tak hladkého sklíčka pořízené kamerou laseru Nd:YAG laseru 1 064 nm. Na první pohled bylo patrné, že kvalita provedení se velmi liší. Na zdrsňném sklíčku byly vytvořeny barevné mezery s rovným okrajem a tedy pravidelnou šířkou. V případě hladkého sklíčka měly barevné mezery zvlněný okraj, jejich šíře byla nepravidelná a vzhledem k vyšší energii pulsu a tepelnému pnutí došlo k vytvoření prasklin. Z tohoto důvodu se přistoupilo na použití Q-switch pulsního Nd:YFL Quantronix 527 DP-N laseru pro hladká sklíčka. V tomto případě byla vytvořena jen dvě provedení rozteče rysek. Omezení bylo dáno možnostmi laseru. Výsledkem byla pravidelná struktura barevných mezer (obr. 30). Skutečné rozměry rysek a barevných mezer udává tabulka VII.



a)

b)

c)

Obr. 28: Zdrsňné sklíčko po aplikaci Nd:YAG laseru: a) 0,8mm, b) 0,3 mm, c) 0,1 mm (převzato z cit.⁹⁶)

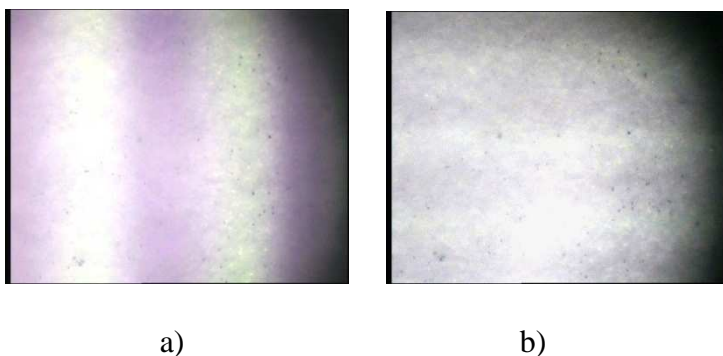


a)

b)

c)

Obr. 29: Hladké sklíčko po aplikaci Nd:YAG laseru: a) 0,8 mm, b) 0,3 mm, c) 0,1 mm (převzato z cit.⁹⁶)



Obr. 30: Hladké sklíčko po aplikaci Nd:YFL laseru: a) 1 mm, b) 0,5 mm (převzato z cit.⁹⁶)

Tab. VII: Skutečné rozměry rysek a barevných mezer (převzato z cit.⁹⁶)

| Sklíčko a typ laseru | Rozteč os (mm) | Rozměr rysky (μm) | Rozměr mezery (μm) |
|----------------------|----------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Zdrsněné Nd: YAG | 1 | 219 | 781 |
| | 0.5 | 230 | 270 |
| | 0.3 | 210 | 90 |
| Hladké Nd: YFL | 1 | 625 | 375 |
| | 1 | 440 | 560 |
| | 0.5 | * | * |

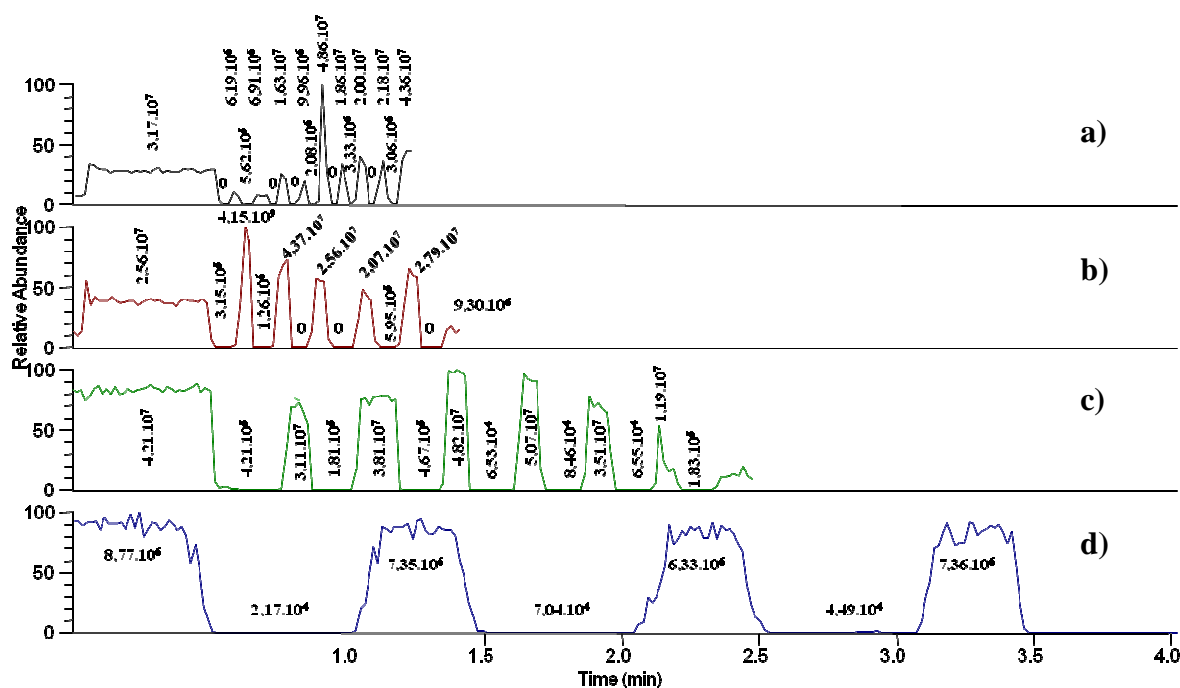
* Rozměr rysky a mezery nebyl změřen

4.3.2. Analýza sklíček po ablaci laserem pomocí nanoDESI – povrchové rozlišení

Analyzována byla zdrsněná sklíčka ve třech provedeních šíře barevné mezery (0,8 mm, 0,3 mm a 0,1 mm) při čtyřech různých rychlostech kontinuálního posunu: 5, 25, 50 a 100 $\mu\text{m/s}$. Dále byla analyzována hladká sklíčka ve dvou provedeních šíře (0,5 mm, 1 mm a 1 mm) při rychlosti kontinuálního posunu 25 $\mu\text{m/s}$. U zdrsněných sklíček byly provedeny ještě dva experimenty: proměření se třemi rozpouštědly a proměření skokovými posuny: každých 5 vteřin o 25 μm a každých 10 vteřin o 25 μm .

Na záznamech získaných pro zdrsněná sklíčka jsou jasně patrné oblasti, ve kterých intenzita signálu pro rhodamin B dosáhla poměrně vysokých hodnot a naopak oblasti, ve kterých se intenzita signálu rhodaminu B snížila nebo dokonce dosáhla nulové hodnoty. Tyto oblasti odpovídají šířce barevných mezer a rysek vytvořených na zdrsněném sklíčku.

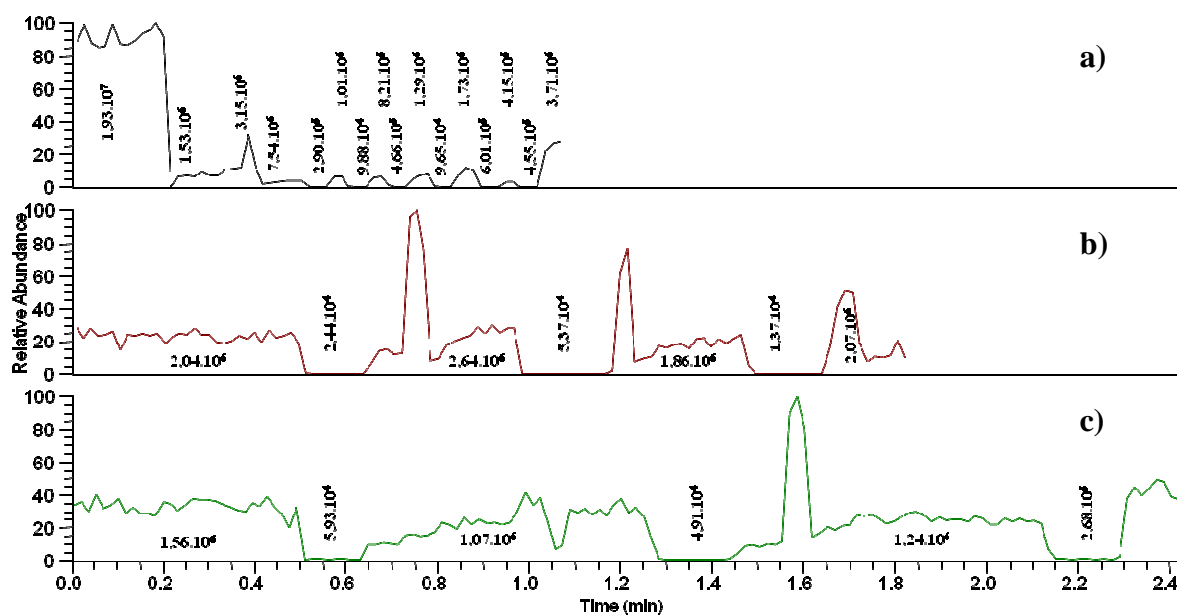
Obrázek 31 ukazuje čtyři analýzy lišící se rychlostí posunu u sklíčka s mezerami 0,1 mm. Ze záznamů lze vyčíst, že intenzita signálu v oblastech s rhodaminem B dosahuje po celou dobu analýzy přibližně stejných hodnot, což potvrzuje homogennost nanesené vrstvy rhodaminu B. Dále lze vyčíst, že se snižující se rychlostí kontinuálního posunu jsou jednotlivé oblasti dokonaleji zaznamenány a lépe tak odpovídají skutečným oblastem vytvořeným na zdrsněném sklíčku.



Obr. 31: Záznam změny iontového proudu signálu $m/z = 443$ při analýze zdrsněného sklíčka s šíří mezery 0,1 mm při kontinuálních posunech: a) 100 $\mu\text{m/s}$, b) 50 $\mu\text{m/s}$, c) 25 $\mu\text{m/s}$, d) 5 $\mu\text{m/s}$

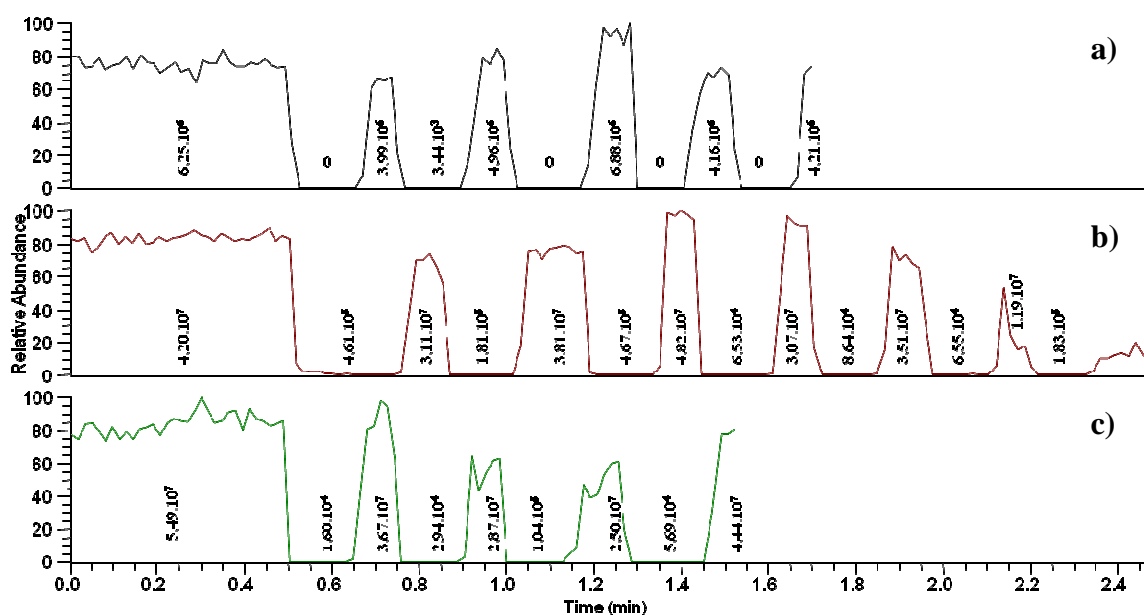
Obdobné závěry platí i pro obrázky uvedené v příloze I zobrazující analýzu sklíčka s mezerami 0,5 mm při čtyřech různých rychlostech posunu a s mezerami 1 mm při třech různých rychlostech posunu.

Analýza hladkých sklíček (obr. 32) se dvěma variantami šíře barevné mezery byla provedena pouze při rychlosti posunu 25 $\mu\text{m/s}$. I v případě těchto sklíček lze říci, že intenzita signálu měla po celou dobu analýzy přibližně stejnou hodnotu a potvrzuje tak homogennost nanesené vrstvy. Dále je patrné, že jednotlivé oblasti nejsou tak dobře zaznamenány jako při analýze zdrsňeného sklíčka při stejné rychlosti posunu. Důvodem může být jiná struktura povrchu sklíčka a tím jiná sorpce rhodaminu B na povrchu.



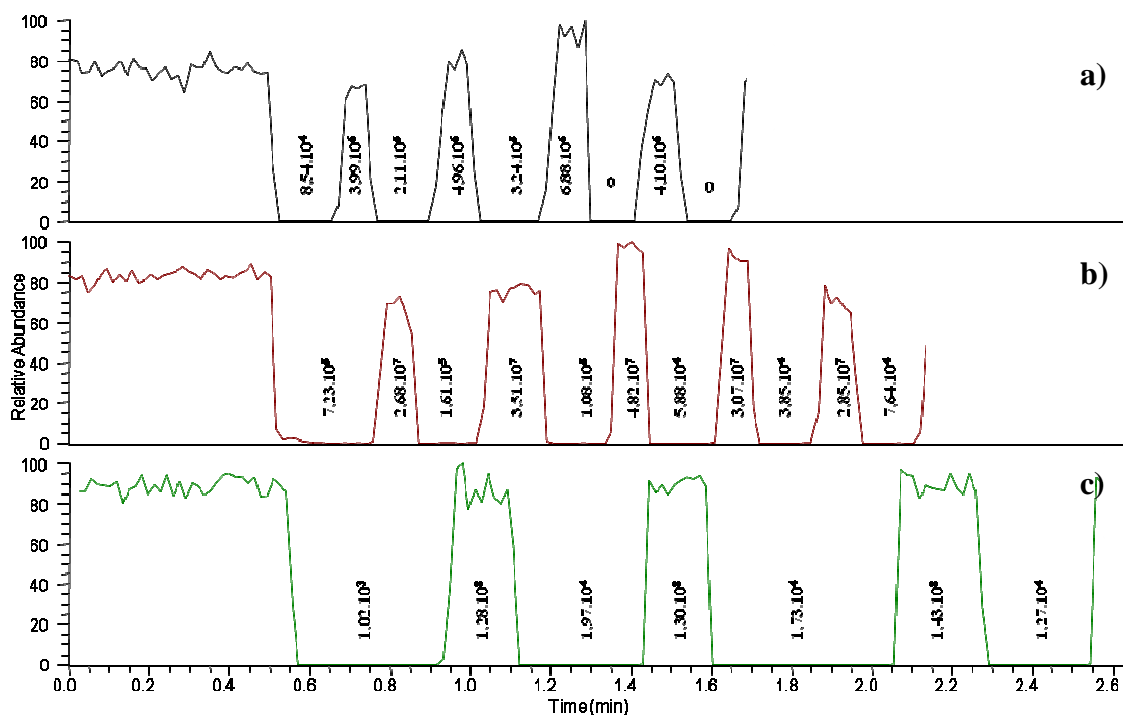
Obr. 32: Záznam změny iontového proudu signálu $m/z = 443$ při analýze hladkého sklíčka po laserové ablaci při kontinuálním posunu rychlostí 25 $\mu\text{m/s}$: a) 0,5 mm, b) 1 mm, c) 1 mm

V dalším experimentu bylo zdrsžené sklíčko s mezerami 0,1 mm analyzováno za použití tří rozpouštědel: MeOH:H₂O (20:80; v/v) 2 % HCOOH, MeOH:H₂O (50:50; v/v) 2 % HCOOH a MeOH:H₂O (80:20; v/v) 2 % HCOOH. Na obr. 33 je vidět, že rozdíl není v tom, jak dobře jsou oblasti s a bez rhodaminu B zaznamenány, ale pouze v hodnotách intenzit signálu. Při použití rozpouštědla s menším obsahem methanolu došlo k poklesu intenzity signálu o jeden řád. Při porovnání běžně používaného rozpouštědla MeOH:H₂O (50:50; v/v) 2 % HCOOH s rozpouštědlem s větším obsahem methanolu není vidět rozdíl, hodnoty intenzity signálu jsou přibližně stejné.



Obr. 33: Záznam změny iontového proudu signálu $m/z = 443$ při analýze zdrsženého sklíčka s 0,1 mm mezerami při posunu 25 $\mu\text{m/s}$: a) MeOH:H₂O (20:80; v/v) 2 % HCOOH, b) MeOH:H₂O (50:50; v/v) 2 % HCOOH, c) MeOH:H₂O (80:20; v/v) 2 % HCOOH

Sklička s mezerami o šíři 0,1 mm bylo analyzováno dvěma způsoby: skok o 25 μm každých 5 vteřin a skok o 25 μm každých 10 vteřin. Na obr. 34 jsou uvedeny záznamy pořízené při této analýze ve srovnání s analýzou při kontinuálním posunu. Na záznamech je vidět, že oblasti odpovídající rhodaminu B a ryskám korespondují se skutečnými oblastmi vytvořenými na zdrsňeném skličku. Zároveň je vidět, že intenzita signálu rhodaminu B je v obou případech vyšší než při kontinuálním posunu. Vysvětlením může být, že sprejovací kapilára setrvává delší dobu na oblasti s rhodaminem B a poskytne tak sprejovací kapalině více času pro desorpci analytu z povrchu sklička.

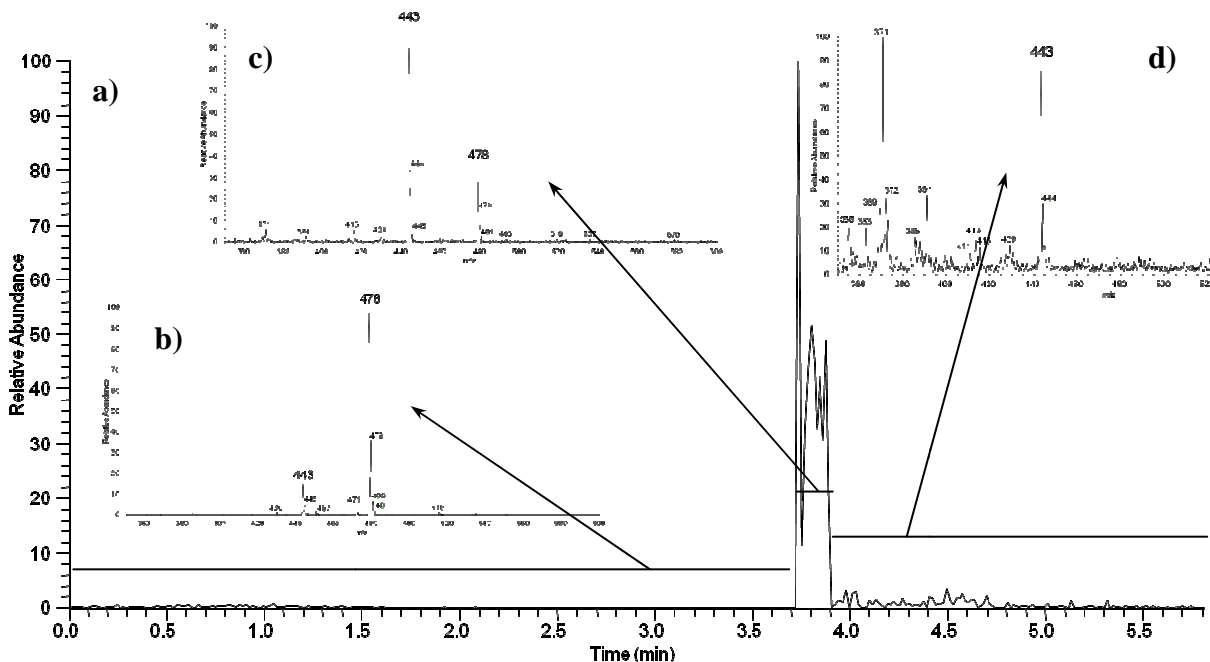


Obr. 34: Záznam změny iontového proudu signálu $m/z = 443$ při analýze zdrsňeného sklička s 0,1 mm mezerami při posunu: a) kontinuální posun 25 $\mu\text{m/s}$, b) skok každých 5 vteřin o 25 μm , c) skok každých 10 vteřin o 25 μm

4.4. Překryté inkousty

Sklíčko s částečně překrytými inkousty bylo proměřeno při rychlosti kontinuálního posunu 5 $\mu\text{m/s}$. Obrázek 35a ukazuje celkový iontový proud, který dosáhl maxima v místě překryvu inkoustů. Obrázky 35b-d zobrazují ionty odpovídající jednotlivým oblastem. Modrý inkoust obsahuje dvě barviva, která mají $m/z = 478$ (modrá – Basic Blue 7)⁹⁷ a $m/z = 443$ (fialová – Basic Violet 10)⁹⁷, kdy modré barvivo převládá. Červený inkoust obsahuje pouze rhodamin B - iont $m/z = 443$ (Basic Red 1).⁹⁷ Fialové a červené barvivo lze odlišit pomocí fragmentace (viz příloha II)

Ze spektra na obr. 35b je patrná přítomnost iontů $m/z = 443$ a 478, který má vyšší intenzitu. Spektrum odpovídá oblasti modrého inkoustu, která byla analyzována první. Na tuto oblast navazoval překryv modrého a červeného inkoustu, kterému odpovídá spektrum na obr. 35c, kde opět vidíme dva ionty $m/z = 443$ a 478. Intenzita signálu iontu $m/z = 443$ je vyšší než intenzita iontu $m/z = 478$, protože se jedná o směs fialového a červeného barviva. Třetí oblastí byl červený inkoust obsahující rhodamin B s hodnotou $m/z = 443$. Spektrum vidíme na obr. 35d, kde již není přítomen iont $m/z = 478$.



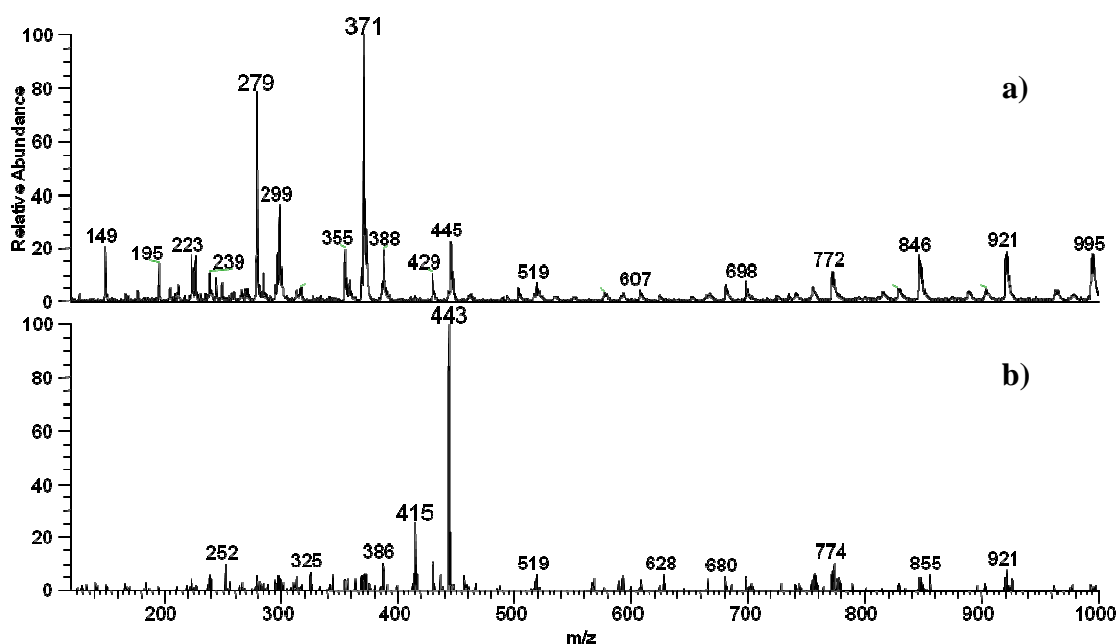
Obr. 35: Spektra překrytých inkoustů při rychlosti posunu 5 $\mu\text{m/s}$: a) záznam celkového iontového proudu, b) spektrum oblasti s modrým inkoustem, c) spektrum oblasti překryvu inkoustů, d) spektrum oblasti červeného inkoustu

4.5. Zasolený vzorek

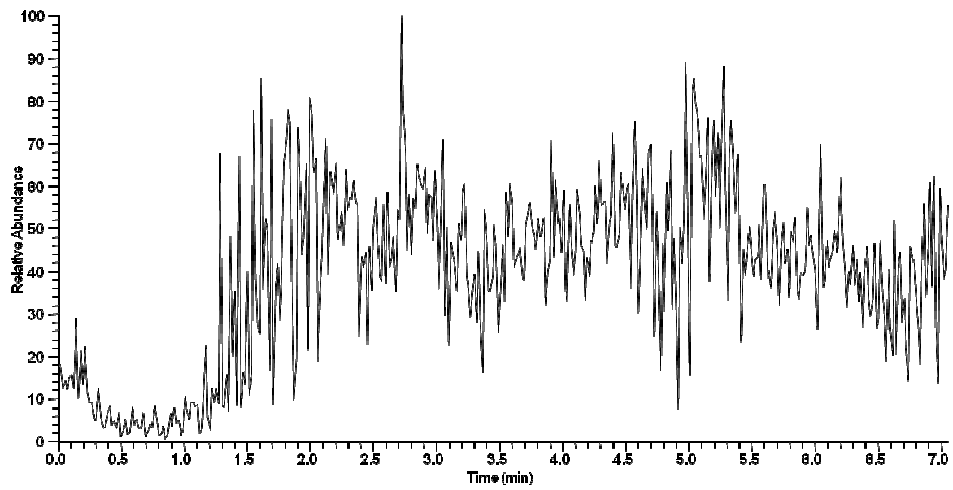
Na obr. 36a je zobrazeno spektrum krystalků chloridu sodného měřeného za kontinuálního posunu sperejovací kapiláry (5 $\mu\text{m/s}$) zobrazující ionty generované použitým rozpouštědlem a krystalky soli. V rozmezí m/z 600-1000 jsou patrně pravidelně se opakující píky pravděpodobně patřící klastrům ($[\text{Na}(\text{NaCl})_x]^+$).

Na obr. 36b je záznam analýzy rhodaminu B na soli při kontinuálním posunu 5 $\mu\text{m/s}$. Intenzita signálu iontu m/z 443 byla $1,83 \cdot 10^5$, která je o něco nižší než při analýze čistého rhodaminu B. Přes vysokou koncentraci chloridu sodného ve vzorku lze ve spektru pozorovat jen lehké zvýšení chemického šumu. Na obr. 37 je uveden záznam iontového proudu signálu $m/z = 443$.

Z výsledků vyplynulo, že zasolení vzorku nemá významný vliv na proces desorpce/ionizace analytu, na vzhled výsledného spektra ani na samotný hmotnostní spektrometr.



Obr. 36: Spektra zasolených vzorků: a) krystalky chloridu sodného, b) červený fix na soli



Obr. 37: Záznam iontového proudu signálu $m/z = 443$ - červený fix na soli

5. ZÁVĚR

Provedenými experimenty bylo prokázáno, že proces smáčení, tedy vystavení zkoumaného povrchu parám rozpouštědla použitého jako sprejovací kapalina, by mohl pozitivně ovlivnit desorpce/ionizaci analytu a zlepšit tak celkový vzhled získaných spekter a intenzitu signálu iontu analytu.

Dále bylo zjištěno, že přítomnost soli ve vzorku nemá dopad na proces desorpce/ionizace a nijak významně neovlivňuje dosažené hodnoty intenzity signálu a fungování hmotnostního spektrometru.

Pomocí sklíček s homogenní vrstvou rhodaminu B po ablaci laserem bylo zjištěno možné povrchové rozlišení desorpčního nanoelektrospreje. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při nejpomalejším kontinuálním posunu. Úspěšně bylo analyzováno sklíčko s nejmenšími mezerami, kdy se skutečná šířka mezery pohybovala pod 100 μm . Stejně úspěšně byla analýza provedena při skokovém posunu.

Instalováním posuvného zařízení byl umožněn počítačem řízený posun, který dovoluje proměření povrchu nejen v jednom bodě a poskytuje tak více informací o vzorku. Také je po celou dobu analýzy zachována vhodná geometrie sprejovací kapiláry.

Za použití tří rozpouštědel byl zkoumán vliv složení sprejovací kapaliny na hodnoty intenzity signálu. Při analýze s rozpouštědlem s menším obsahem methanolu – MeOH:H₂O (20:80; v/v) 2 % HCOOH došlo k poklesu intenzity signálu o jeden řád. Při analýze se standardně používaným rozpouštědlem MeOH:H₂O (50:50; v/v) 2 % HCOOH a rozpouštědlem s větším obsahem methanolu MeOH:H₂O (80:20; v/v) 2 % HCOOH pokles intenzity signálu nebyl pozorován.

Analýzou částečně překrytých inkoustů s pomocí posuvného zařízení byla prokázána schopnost iontového zdroje rozeznat analyzované oblasti na základě získaných spekter.

Závěrem lze říci, že získané výsledky prokázaly účinnost a rozlišení techniky nanoDESI, která tak může konkurovat již zavedeným analytickým a hlavně hmotnostně spektrometrickým technikám.

6. LITERATURA

1. Vickerman J. C., Gilmore I. S.: *Surface analysis – The principal techniques 2nd Edition*. John Wiley and Sons, 2009.
2. Ariza M. J., Martín F., Leinen D.: *XPS surface analysis of monocrystalline silicon solar cells for manufacturing control*. *Apl. Phys. A*, **73**, 579-584 (2001).
3. Finšgar M., Kek Merl D.: *2-Mercaptobenzoxazole as a copper corrosion inhibitor in chloride solution: Electrochemistry, 3D-profilometry, and XPS surface analysis*. *Corrosion Sci.*, **80**, 82-95 (2014).
4. Svensson S. P., Sarney W. L., Yu K. M., Ting M., Calley W. L., Novikov S. V., Foxon C. T., Walukiewicz W.: *Determination of N-/Ga-rich growth conditions, using in-situ auger electron spectroscopy*. *J. Cryst. Growth* (2015).
5. Dolbak A. E., Olshanetskii B. Z.: *Silver diffusion over silicon surfaces with adsorbed tin atoms*. *J. Exp. Theor. Phys.*, **120**, 275-280 (2015).
6. Wang G., Sun N., Qin J., Shi W., Wang L.: *Effect of sputtering conditions on the microstructures of YNiBi thin film*. *Applied Mechanics and Materials*, **341-342**, 149-152 (2013).
7. Ramzan M., Ahmed E., Niaz N. A., Rana A. M., Bhatti A. S., Khalid N. R., Nadeem M. Y.: *AFM applications to study the morphology of HfO₂ multilayer thin films*. *Superlattices Microstruct.*, **82**, 399-405 (2015).
8. Mittal N., Jain S., Mittal J.: *Application of electron energy loss spectroscopy for single wall carbon nanotubes (review)*. *J. Appl. Spectrosc.*, **82**, (2014).
9. Brydson R., Eddleston M. D., Jones W., Seabourne C. R., Hondow N.: *EELS from organic crystalline materials*. *Journal of Physics: Conference Series*, **522**, 012060 (2014).
10. Grandthyll S., Jacobs K., Müller F.: *Liquid-source growth of graphene on Ag(001)*. *Phys. Status Solidi B*, 1-5 (2015).
11. Willkens H., Spieß W., Zoellner M. H., Niu G., Schroeder T., Wollschläger J.: *Post deposition annealing of epitaxial Ce_{1-x}Pr_xO_{2-δ} film grown on Si(111)*. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **17**, 9991-9996 (2015).
12. Téllez H., Aguadero A., Druce J., Burriel M., Fearn S., Ishihara T., McPhail D. S., Kilner J. A.: *New perspectives in the surface analysis of energy materials combined time-of-flight secondary ion mass spectrometry (TOF-SIMS) and high sensitivity low-energy ion scattering (HS-LEIS)*. *J. Anal. At. Spectrom.*, **29**, 1361-1370 (2014).

13. Almeida R. M., Hickey R., Jain H., Pantano C. G.: *Low-energy ion scattering spectroscopy of silicate glass surface*. J. Non-Cryst. Solids, **385**, 124-128 (2014).
14. Gambardella A., Graziosi P., Bergenti I., Prezioso M., Pullini D., Milita S., Biscarini F., Dediu V. A.: *Surface nanostructures in manganite films*. Sci. Rep., (2014).
15. Paszternák A., Shviro M., Nyikos L., Zitoun D.: *Directed deposition of nickel nanoparticles using self-assembled organic template*. J. Nanomat., (2014).
16. Shigemoto A., Amano T., Yamamoto R.: *Work function measurements of vanadium doped diamond-like carbon films by ultraviolet photoelectron spectroscopy*. Condensed Matter (2014).
17. Ogawa K., Tsujibayashi T., Takahashi K., Azuma J., Ichimiya M., Kamada M.: *Electronic structures of the L-cysteine films on dental alloys studied by ultraviolet photoelectron spectroscopy*. Journal of Physics: Conference Series, **417**, 012057 (2013).
18. Adam F., Thiam-Seng C., Ramasanthiran A.: *Oxidation of n-heptan over functionalised chromium/silver bimetallic heterogeneous catalyst*. Journal of Physical Science, **24**, 51-59 (2013).
19. Adam F., Thiam-Seng C.: *The production of hydrogen by catalytic oxidation of hydrocarbons using a rice husk based kobalt phyllosilicate catalyst*. Journal of Physical Science, **24**, 61-74 (2013).
20. www.uksaf.org/tech/list.html
21. Powell C. J.: *Growth and trends in Auger electron spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy*. Journal of Surface Analysis, **14**, 299-304 (2008).
22. Jayna A.: *A comparative study on relative adherence of metal ceramic porcelain with precious and non precious alloys using electron spectroscopy for chemical analysis technique*. The internet Journal of Laboratory medicine, **4** (2009).
23. Sutter P., Sutter E.: *Thickness determination of few-layer hexagonal boron nitride films by scanning electron microscopy and Auger electron spectroscopy*. J. Appl. Phys. (APL materials), **2**, 092502 (2014).
24. Variola F.: *Atomic force microscopy in biomaterials surface science*. Phys. Chem. Chem. Phys., **17**, 2950-2959 (2015).
25. Bellucci S., Gaggiotti G., Marchetti M., Micciulla F., Mucciato R., Regi M.: *Atomic force microscopy characterization of carbon nanotubes*. Journal of Physics: Conference series, **61**, 99-104 (2007).

26. Egerton R. F.: *Electron energy-loss spectroscopy in the TEM*. Rep. Prog. Phys., **72**, 016502 (2009).
27. Zhu J., Crozier P. A., Ercius P., Anderson J. R.: *Derivation of optical properties of carbonaceous aerosols by monochromated electron energy-loss spectroscopy*. Microsc. Microanal., **20**, 748-759 (2014).
28. Held G.: *Low-energy electron diffraction crystallography of surfaces and interfaces*. Bunsen-Magazin, **12**, 124-131 (2010).
29. Beechem T. E., Ohta T., Diaconescu B., Robinson J. T.: *Rotational disorder in twisted bilayer graphene*. American Chemical Society, **8**, 1655-1663 (2014).
30. <http://www.tascon.eu/media/en/analytical%20methods/LEIS-ISS-English.pdf> (3.3. 2015)
31. Druce J., Téllez H., Simrick N., Ishihara T., Kilner J.: *Surface composition of solid oxide electrode structures by laterally resolved low energy ion scattering (LEIS)*. International Journal of Hydrogen energy, 1-6 (2014).
32. Michele O.: *Rastrovací tunelová mikroskopie STM*. Bakalářská práce, Vysoké učení technické v Brně, Brno 2010.
33. Yan H., Xu R., Hong X., Sun Y., Feng L., Nie J-C, He L.: *Zero-bias anomaly in one-dimensional ultrathin metallic nanowires*. AIP Advances, **2**, 032143 (2012).
34. <http://physics.mff.cuni.cz/kevf/s4r/povrch/upsarups.html>
35. Yamamoto Y., Ohara H., Kajikawa K., Ishii H., Ueno N., Seki K., Ouchi Y.: *Differential thermal analysis and ultraviolet photoemission study on the surface freezing effect of n-alkane*. J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom., **101-103**, 555-558 (1999).
36. Vyskočilová G.: *Průzkum vrstev polychromie dřevěných soch*. Bakalářská práce, Masarykova univerzita, Brno 2009.
37. Frantík A.: *EDX mikroanalýza nanopráškových materiálů*. Diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2010.
38. Guerrero-Molina M. F., Lovaisa N. C., Salazar S. M., Díaz-Ricci J. C., Pedraza R. O.: *Elemental composition of strawberry plants inoculated with the plant growth-promoting bacterium Azospirillum brasilense REC3, assessed with scanning electron microscopy and energydispersive X-rayanalysis*. Plant Biol., **16**, 726-731 (2014).
39. Petrovic M., Talian I., Skantarova L., Orinak A., Velic D.: *TOF-SIMS surface analysis of L-Tryptophan self assembled monolayer*. Cent. Eur. J. Chem., **12(5)**, 568-576 (2014).

40. Jones B. N., Palitsin V., Webb R.: *Surface analysis with high energy time-of-flight secondary ion mass spectrometry measured in parallel with PIXE and RBS*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, **268**, 1714-1717 (2010).
41. Liang B., Ju Y., Joubert J. R., Kaleta E. J., Lopez R., Jones I. W., Hall Jr H. K., Ratnayaka S. N., Wysocki V. H., Saavedra S. S.: *Label-free detection and identification of protein ligands captured by receptors in a polymerized planar bilayer using MALDI-TOF MS*. Anal. Bioanal. Chem., (2015).
42. Ma N., Bian W., Li R., Geng H., Zhang J., Dong C., Shuang S., Cai Z.: *Quantitative analysis of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons in PM_{2.5} samples with graphene as a matrix by MALDI-TOF MS*. Anal. Methods, (2015)
43. Srimany A., Jayashree B., Krishnakumar S., Elchuri S., Pradeep T.: *Identification of effective substrates for the direct analysis of lipids from cell lines using desorption electrospray ionization mass spectrometry*. Rapid Commun. Mass Spectrom., **29**, 349-356 (2015).
44. Ranc V., Havlíček V., Bednář P., Lemr K.: *Desorpční elektrosprej: Moderní metoda analýzy organických povrchů*. Chem. Listy, **101**, 524-529 (2007).
45. Lasikn J., Eckert P. A., Roach J. P., Heath B. S., Nizkorodov S. A., Laskin A.: *Chemical analysis of complex organic mixtures using reactive nanospray desorption electrospray ionization mass spectrometry*. Anal. Chem., **84**, 7179-7187 (2012).
46. Watrous J., Roach P., Heath B., Alexandrov T., Laskin J., Dorrestein P. C.: *Metabolic profiling directly from the Petri dish using nanospray desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry*. Anal. Chem., **85**, 10385-10391 (2013).
47. Fernández B., Rodríguez-González P., García Alonso J. I., Malherbe J., García-Fonseca S., Pereiro R., Sanz-Medel A.: *On-line double isotope dilution laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for the quantitative analysis of solid material*. Anal. Chim. Acta, **851**, 64-71 (2014).
48. Li. Z., Hu Z., Liu Y., Gao S., Li M., Zong K., Chen H., Hu S.: *Accurate determination of elements in silicate glass by nanosecond and femtosecond laser ablation ICP-MS at high spatial resolution*. Chem. Geol., **40**, 11-23 (2015).
49. Vidová V., Volný M., Lemr K., Havlíček V.: *Surface analysis by imaging mass spectrometry*. Collect. Czech. Chem. Commun., **74**, 1101-1116 (2009).

50. Annangudi S. P., Myung K., Adame C. A., Gilbert J. R.: *MALDI-MS imaging analysis of distribution of fungicide residue on wheat leaf surface*. Environ. Sci. Technol., (2015).
51. D'Alvise J., Mortensen R., Hansen S. H., Janfelt C.: *Detection of follicular transport of lidocaine and metabolism in adipose tissue in pig ear skin by DESI mass spectrometry imaging*. Anal. Bioanal. Chem., **406**, 3735-3742 (2014).
52. Ellis S. R., Wu C., Deeley J. M., Zhu X., Truscott R. J. W., Panhuis M., Cooks R. G., Mitchell T. W., Blanksby S. J.: *Imaging of human lens lipids by desorption electrospray ionization mass spectrometry*. J. Am. Soc. Mass. Spectrom., **21**, 2095-2104 (2010).
53. Bonta M., Lohninger H., Laszlo V., Hegedus B., Limbeck A.: *Quantitative LA-ICP-MS imaging of platinum in chemotherapy treated human malignant pleural mesothelioma samples using printed patterns as standards*. J. Anal. At. Spectrom., **29**, 2159-2167 (2014).
54. Gustafsson O. J. R., Briggs M. T., Condina M. R., Winderbaum L. J., Pelzing M., McColl S. R., Everest-Dass A. V., Packer N. H., Hoffmann P.: *MALDI imaging mass spectrometry of N-linked glycans on formalin-fixed paraffin-embedded murine kidney*. Anal. Bioanal. Chem., **407**, 2127-2139 (2015).
55. Lanekoff I., Heath B. S., Liyu A., Thomas M., Carson J. P., Laskin J.: *Automated platform for high-resolution tissue imaging using nanospray desorption electrospray ionization mass spectrometry*. Anal. Chem., **84**, 8351-8356 (2012).
56. Angerer T. B., Dowlatshahi Pour M., Malmberg P., Fletcher J. S.: *Improved molecular imaging in rodent brain with time-of-flight-secondary ion mass spectrometry using gas cluster ion beams and reactive vapor exposure*. Anal. Chem., (2015).
57. Prideaux B., Stoekli M.: *Mass spectrometry imaging for drug distribution studies*. J. Proteomics, **75**, 4999-5013 (2012).
58. Boxer S. G., Kraft M. L., Weber P. K.: *Advances imaging secondary ion mass spectrometry for biological samples*. Annu. Rev. Biophys., **38**, 53-74 (2009).
59. Wu B., Becker J. S.: *Imaging of elements and molecules in biological tissues and cells in the low-micrometer and nanometer range*. Int. J. Mass Spectrom., **307**, 112-122 (2011).
60. Stevie F. A., Maheshwari P., Pierce J. M., Adekore B. T., Griffis D. P.: *SIMS analysis of zinc oxide LED structures: quantification and analysis issues*. Surf. Interface Anal., **45**, 352-355 (2013).

61. Starlinger S., Eitzinger B.: An application of ToF-SIMS to fine papers. *Surf. Interface Anal.*, **38**, 369-374 (2006).
62. Karas, M.; Hillenkamp, F.: *Laser Desorption Ionization of Proteins with Molecular Masses Exceeding 10,000 Daltons*. *Anal. Chem.*, **60**, 2299-2301 (1988).
63. Trchalíková L.: *Charakterizace biomolekul hmotnostní spektrometrií a separačními technikami*. Disertační práce, Masarykova univerzita, Brno 2011.
64. Mikešová R.: *Analýza složení plodu rostlin rodu Lycium*. Diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2013.
65. Peš O.: *Identifikace proteinů enzymatickým štěpením a MALDI-TOF MS*. Diplomová práce, Masarykova univerzita, Brno 2006.
66. Celikbicak O., Bayramoglu G., Yilmaz M., Ersoy G., Bicak N., Salih B., Arica M. Y.: *Immobilization of laccase on hairy polymer grafted zeolite particles: Degradation of a model dye and product analysis with MALDI-ToF-MS*. *Microporous Mesoporous Mat.*, **199**, 57-65 (2014).
67. Fröhlich S. M., Dorrer V., Archodoulaki V. M., Allmaier G., Marchetti-Deschmann M.: *Synovial fluid protein adsorption on polymer-based artificial hip joint material investigated by MALDI-TOF mass spectrometry imaging*. *EuPA Proteomics*, **4**, 70-80 (2014).
68. Russo R. E., Mao X., Liu H., Gonzalez J., Mao S. S.: *Laser ablation in analytical chemistry – review*. *Talanta*, **27**, 425-451 (2002).
69. Durrant S. F.: *Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry: achievements, problems, prospects*. *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 1385-1403 (1999).
70. Alamilla F., Calcerrada M., García-Ruiz C., Torre M.: *Forensic discrimination of blue ballpoint pens on documents by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and multivariate analysis*. *Forensic Sci. Int.*, **228**, 1-7 (2013).
71. Syta O., Rozum K., Choińska M., Zielińska D., Żukowska G. Z., Kijowska A., Wagner B.: *Analytical procedure for characterization of medieval wall-paintings by X-ray fluorescence spectrometry, laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and Raman spectroscopy*. *Spectrochimica Acta Part B*, **101**, 140-148 (2014).
72. Takáts Z., Wiseman J. M., Gologan B., Cooks R. G.: *Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization*. *Science*, **306**, 471-473 (2004).

73. Ifa D. R., Wu C., Ouyang Z., Cooks R. G.: *Desorption electrospray ionization and other ambient ionization methods: current progress and preview*. *Analyst*, **135**, 669-681 (2010).
74. Takáts Z., Wiseman J. M., Cooks R. G.: *Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): instrumentation, mechanism and applications in forensics, chemistry, and biology*. *J. Mass Spectrom.*, **40**, 1261-1275 (2005).
75. Berchtold Ch., Müller V., Meier L., Schmid S., Zenobi R.: *Direct detection of chlorpropham on potato skin using desorption electrospray ionization*. *J. Mass Spectrom.*, **48**, 587-593 (2013).
76. Salter T. L., Green F. M., Faruqi N., Gilmore I. S.: *Analysis of personal care products on model skin surface using DESI and PADI ambient mass spectrometry*. *Analyst*, **136**, 3274-3280 (2011).
77. Li B., Hansen S. H., Janfelt Ch.: *Direct imaging of plant metabolites in leaves and petals by desorption electrospray ionization mass spectrometry*. *Int. J. Mass Spectrom.*, **348**, 15-22 (2013).
78. Sokol E., Jackson A. U., Cooks R. G.: *Trace detection of inorganic oxidants using desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry*. *Cent. Eur. J. Chem.*, **9** (5), 790-797 (2011).
79. Soparawalla S., Salazar G. A., Sokol E., Perry R. H., Cooks R. G.: *Trace detection of non-uniformly distributed analytes on surfaces using mass transfer and large-area desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometry*. *Analyst*, **135**, 1953-1960 (2010).
80. Lin Z., Zhao M., Zhang S., Yang Ch., Zhang X.: *In situ arsenic speciation on solid surface by desorption electrospray ionization tandem mass spectrometry*. *Analyst*, **135**, 1268-1275 (2010).
81. Costa C. D., Reynolds J. C., Whitmarsh S., Lynch T., Creaser C. S.: *The quantitative surface analysis of an antioxidant additive in a lubricant oil matrix by desorption electrospray ionization mass spectrometry*. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2420-2424 (2013).
82. Justes D. R., Talaty N., Cotte-Rodriguez I., Cooks R. G.: *Detection of explosives on skin using ambient ionization mass spectrometry*. *Chem. Commun.*, 2142-2144 (2007).

83. Hartmanová L.: *Vývoj a aplikace desorpčního nanoelektrospreje*. Disertační práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2014.
84. Hartmanová L., Fryčák P., Lemr K. Funkční vzorek – *Zařízení pro hmotnostně spektrometrické zobrazování s využitím nanoDESI* 2013, FV02/ACH/2013.
85. Hartmanová L., Borovcová L., Lemr K Funkční vzorek – *Zlepšení reprodukovatelnosti desorpčního nanoelektrospreje pomocí teflonového nástavce* 2013, FV01/ACH/2013.
86. Ranc V., Havlíček V., Bednář P., Lemr K.: *Nano-desorption electrospray and kinetic method in chiral analysis of drugs in whole human blood samples*. Eur. J. Mass Spectrom., **14**, 411-417 (2008).
87. Hartmanová L., Ranc V., Papoušková B., Bednář P., Havlíček V., Lemr K.: *Fast profiling of anthocynins in wine by desorption nano-electrospray ionization mass spectrometry*. J. Chromatogr. A, **1217**, 4223-4228 (2010).
88. Roach P. J., Laskin J., Laskin A.: *Nanospray desorption electrospray ionization: an ambient method for liquid-extraction surface sampling in mass spectrometry*. Analyst, **135**, 2233-2236 (2010).
89. Laskin J., Heath B. S., Roach P. J., Cazares L., Semmes O. J.: *Tissue imaging using nanospray desorption electrospray ionization mass spectrometry*. Anal. Chem., **84**, 141-148 (2012).
90. Lanekoff I., Thomas M., Carson J. P., Smith J. N., Timchalk C., Laskin J.: *Imaging nicotine in rat brain tissue by use of nanospray desorption electrospray ionization mass spectrometry*. Anal. Chem., **85**, 882-889 (2013).
91. Badu-Tawiah A., Bland C., Campbell D. I., Cooks R. G.: *Non-aqueous spray solvents and solubility effects in desorption electrospray ionization*. J. Am. Soc. Mass Spectrom., **21**, 572-579 (2010).
92. Green F. M., Salter T. L., Gilmore I. S., Stokes P., O'Connor G.: *The effect of electrospray solvent composition on desorption electrospray ionization (DESI) efficiency and spatial resolution*. Analyst, **135**, 731-737 (2010).
93. Kauppila T. J., Talaty N., Salo P. K., Kotiaho T., Kostianen R., Cooks R. G.: *New surfaces for desorption electrospray ionization mass spectrometry: porous silicon and ultra-thin layer chromatography plates*. Rapid Commun. Mass Spectrom., **20**, 2143-2150 (2006).

94. Jackson A. U., Talaty N., Cooks R. G., Van Berkel J.: *Salt tolerance of desorption electrospray ionization*. J. Am. Soc. Mass Spectrom., **18**, 2218-2225 (2007).
95. Sahu N., Parija B., Panigrahi S.: *Fundamental understanding and modeling of spin coating process: A review*. Indian J. Phys., **83** (4), 493-502 (2009).
96. Chmelíčková H.: *Vytvoření stupnice na mikroskopickém sklíčku ablací aplikované vrstvy rhodaminu laserovým zařízením*. 2015, 3 s. Protokol. Společná laboratoř optiky Univerzity Palackého a Fyzikálního ústavu Akademie věd České republiky, Olomouc.
97. Ng L. K., Lafontaine P., Brazeau L.: *Ballpoint pen inks: Characterization by positive and negative ion-electrospray ionization mass spectrometry for the forensic examination of writing inks*. J. Forensic Sci. **47**, 1238-1247 (2002).

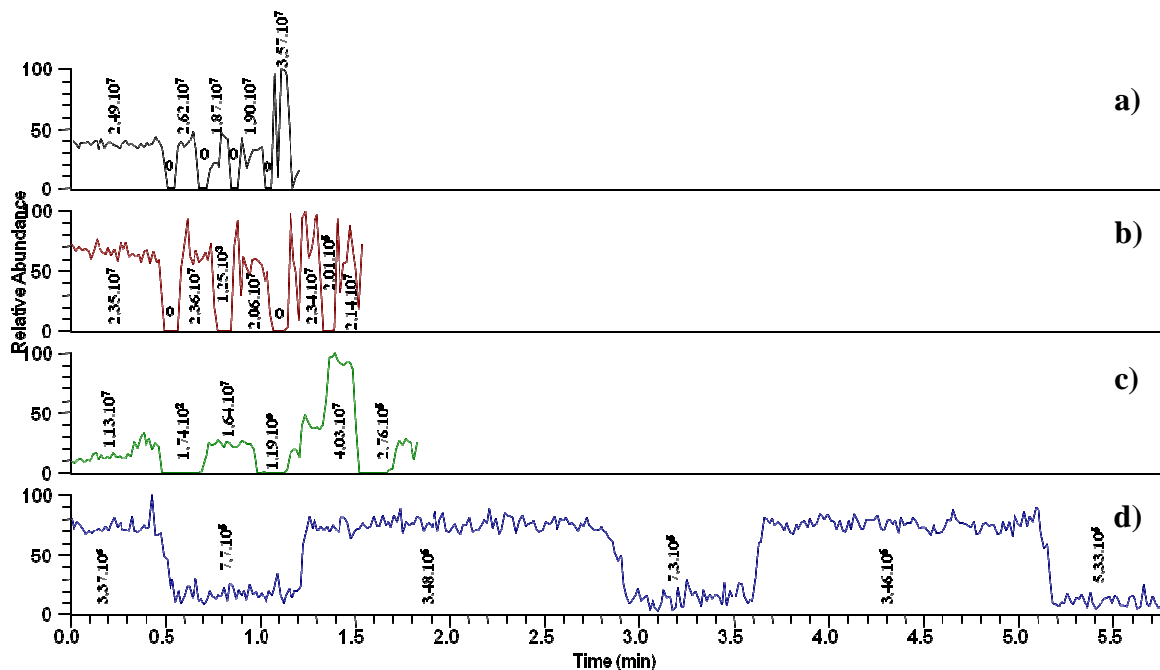
7. ZKRATKY

| | |
|-----------|--|
| 2D/ 3D | dvě dimenze/ tři dimenze |
| AES | augerova elektronová spektroskopie (z angl. auger electron spectroscopy) |
| AFM | mikroskopie atomárních sil (z angl. atomic force microscopy) |
| DESI | desorpční elektrosprej (z angl. desorption electrospray ionization) |
| DOPA | dihydroxyfenylalanin |
| DTA | diferenčně termická analýza |
| EELS | spektroskopie ztrát energie elektronů (z angl. electron energy loss spectroscopy) |
| EDS | energievě disperzní spektroskopie (z ang. energy dispersive spectroscopy) |
| EDX | energievě disperzní analýza (z angl. energy dispersive X-ray analysis) |
| ESCA | elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu (z angl. electron spectroscopy for chemical analysis) |
| ESI | ionizace elektrosprejem (z angl. electrospray ionization) |
| h-BN | hexagonálního nitridu boru (z angl. hexagonal boron nitride) |
| HPLC | vysokoučinná kapalinová chromatografie (z angl. high performance liquid chromatography) |
| ISS | spektroskopie rozptýlených iontů (z angl. ion scattering spectroscopy) |
| LA-ICP-MS | hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a přídatným zařízením pro laserovou ablaci (z angl. laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry) |
| LEED | difrakce elektronů s nízkou energií (z angl. low energy electron diffraction) |
| LEIS | rozptyl iontů s nízkou energií (z angl. low energy ion scattering) |
| MALDI | desorpce ionizace laserem za přítomnosti matrice (z angl. matrixassisted laser desorption ionization) |

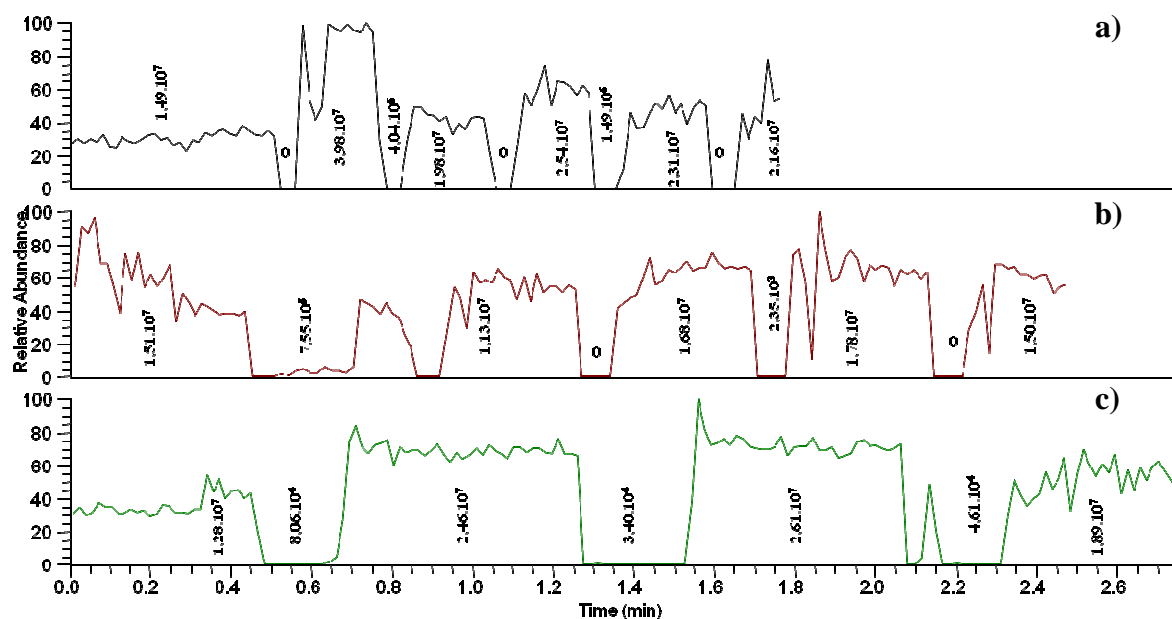
| | |
|-----------|---|
| nanoDESI | desorpční nanoelektrosprej (z angl. desorption nanoelectrospray ionization) |
| nano-DESI | desorpční nanoelektrosprej (z angl. nanospray desorption electrospray ionization) |
| ODA | oktadecylamin |
| PAL | povrchově aktivní látky |
| PMMA | polymethylmethakrylát |
| PTFE | polytetrafluorethylen |
| RTG | rentgenové záření |
| SIMS | hmotnostní spektrometrie sekundárních iontů (z angl. secondary ion mass spectrometry) |
| SPA-LEED | analýza bodových profilů (z angl. spot profile analysis) |
| SPM | mikroskopie skenovací sondou (z angl. scanning probe microscopy) |
| STM | skenovací tunelovací mikroskopie (z angl. scanning tunnelling microscopy) |
| TBG | kroucená dvou vrstva grafenu (z angl. twisted bilayer graphene) |
| TOF | průletový analyzátor (z angl. time of flight) |
| UV | ultra fialové záření (z angl. ultra violet) |
| XPS | rentgenová fotoelektronová spektroskopie (z angl. X-ray photoemission Spectroscopy) |

8. PŘÍLOHY

I. Analýza sklíčků po ablaci laserem pomocí nanoDESI – povrchové rozlišení

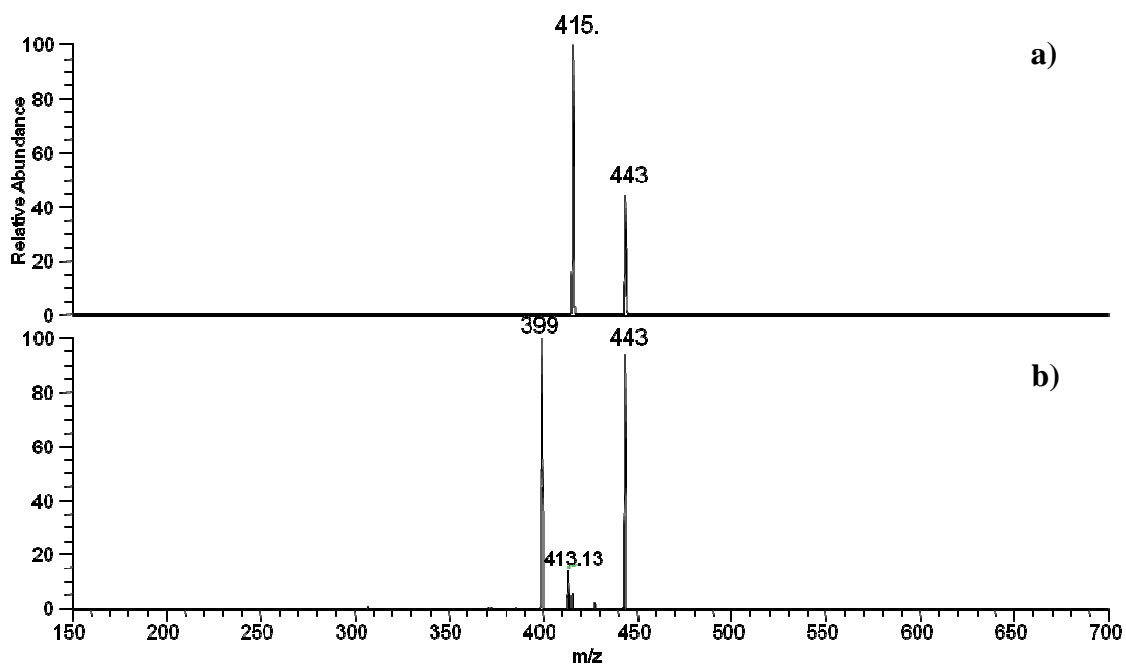


Záznam změny iontového proudu signálu $m/z = 443$ při analýze zdrsňeného sklíčka s šíří mezery 0,3 mm při kontinuálních posunech: a) 100 $\mu\text{m/s}$, b) 50 $\mu\text{m/s}$, c) 25 $\mu\text{m/s}$, d) 5 $\mu\text{m/s}$



Záznam změny iontového proudu signálu $m/z = 443$ při analýze zdrsňeného sklíčka s šíří mezery 0,8 mm při kontinuálních posunech: a) 100 $\mu\text{m/s}$, b) 50 $\mu\text{m/s}$, c) 25 $\mu\text{m/s}$

II. Porovnání fragmentačních spekter



Fragmentační spektra: a) červené barvivo – Basic Red 1, b) fialové barvivo – Basic Violet 10